

أساسيات وطرق

خليل مبيدات الآفات

دكتور

زيدان هندی عبد الحمید



المكتبة الأكاديمية



اساسيات وطرق
تحليل مبيدات الآفات

أساسيات وطرق تحليل مبيدات الآفات

دكتور

زيدان هندی عبد الحمید

أستاذ كيمياء المبيدات
ووكيل كلية الزراعة جامعة عين شمس
للدراسات العليا والبحوث



الناشر

المكتبة الأكاديمية

١٩٩٩

حقوق النشر

الطبعة الأولى: حقوق التأليف والطبع والنشر © ١٩٩٩ جميع الحقوق محفوظة للناشر:

المكتبة الأكاديمية

١٢١ ش التحرير - الدقى - القاهرة

تليفون : ٣٤٩١٨٩٠ / ٣٤٨٥٢٨٢

فاكس : ٣٤٩١٨٩٠ - ٢٠٢

لا يجوز استنساخ أى جزء من هذا الكتاب بأى طريقة كانت إلا بعد الحصول على تصريح كتابى من الناشر.

إهداء

تحيّة واعزاز ومفدير الى :

* الزوجة التى شاركتنى رحلة العمر بطوها ومرها وتحملتنى كثيراً
وصبرت أكثر وأعانتنى على أعباء الحياة وتحملت مسئوليات
الأسرة والأولاد والدراسة .

أ.د. نجوى محمود محمد حسين
رئيس بحوث معهد بحوث وقاية النباتات
مركز البحوث الزراعية

المحتويات

الفصل الأول

- ١٣ - المبادئ الأساسية في تحليل وتقدير مخلفات المبيدات

الفصل الثاني

- ٤٣ - أهمية المعرفة بأساسيات تحليل مخلفات المبيدات وتجنب مشاكلها

الفصل الثالث

- إرشادات ودلائل تقييم أداء طرق تحليل المبيدات من خلال
الدراسات المشتركة في مركز سيالك Cipac ٦٣

الفصل الرابع

- ٨٧ - الجفاف ومخلفات مبيدات الآفات في الماء

الفصل الخامس

- ٩٣ - تحليل مستحضرات المبيدات وضع الطرق والإختبارات المشتركة

الفصل السادس

- ١٠٧ - التطويرات الحديثة في الطرق الآلية لتجهيز العينات الخاصة بتحليل
المبيدات

الفصل السابع

- ١١٧ - أساسيات عمليات الإستخلاص والتنظيف في تقدير المخلفات

الفصل الثامن

- ١٥٥ - التقدم في طرق التيقية والإشتقاق لتحليل متبقيات مبيدات الآفات

الفصل التاسع

- ١٦١ - طرق تحليل مخلفات المبيدات

الفصل العاشر

- ١٨٩ - عمليات التحليل الجيدة لتقدير مخلفات المبيدات

الفصل الحادى عشر

- ٢١١ - طرق الكشف عن المبيدات بالوسائل الاسبكتروفوتومترية

الفصل الثاني عشر

٢٣١ - الفصل الكروماتوجرافى بالألواح ذات الطبقة الرقيقة

الفصل الثالث عشر

٢٧٣ - الكروماتوجرافى الغازى والغازى السائل

الفصل الرابع عشر

٣٢٠ - كروماتوجرافى السائل عالى الأداء

الفصل الخامس عشر

٣٢٩ - النظائر المشعة والكشف عن المبيدات والكيميائيات الأخرى

الفصل السادس عشر

٣٦١ - الطرق الانزيمية لتقدير مبيدات الآفات

الفصل السابع عشر

٣٨١ - استخدام تقدير المناعة فى تحليل مخلفات مبيدات الآفات

الفصل الثامن عشر

٣٩٧ - التقييم المناعى للكيميائيات الزراعية

الفصل التاسع عشر

- تقدير مركب ايروديون فى الأغذية باستخدام طريقة التحليل

٤١٣ المناعى الانزيمى

الفصل العشرون

- استخدام الأجسام المضادة وحيدة الأوجه للكشف عن آثار المواد

٤١٩ الكيميائية

الفصل الواحد والعشرون

- استخدام الطرق المبسطة للتقدير الكمى لمخلفات مبيدات الآفات ٤٢٣

الفصل الثاني والعشرون

- اتجاهات خاصة بطرق تقدير مخلفات المبيدات ٤٣٥

الفصل الثالث والعشرون

- ٤٥١ - الموقف الراهن لفن تحليل المخلفات المتعددة

الفصل الرابع والعشرون

- ٤٦٣ - التقدير الأمثل ومقاييس التنقية في طرق التحليل المتعدد والحساسية
لمتبقيات المبيدات

الفصل الخامس والعشرون

- ٤٧١ - العوامل الرئيسية التي تؤثر على صلاحية وكفاءة طرق تحليل
المخلفات المتعددة

الفصل السادس والعشرون

- ٤٨٣ - الوضع الحالي والمستقبلي للطرق المتعددة لتقدير مخلفات المبيدات

الفصل السابع والعشرون

- ٤٩٥ - الاختبارات التأكيدية

الفصل الثامن والعشرون

- ٥١٧ - الطرق البولاروجرافية « الإستقطاب » والطرق المرتبطة بها

الفصل التاسع والعشرون

- ٥٣٣ - طرق عامة لتعريف مخلفات المبيدات في عينات غير معلومة
المصدر (الأصل)

الفصل الثلاثون

- ٥٣٩ - تحليل مخلفات في المصادر المائية

الفصل الواحد والثلاثون

- ٥٥٩ - تحليل المبيدات في السمك والحياة البرية

- ٥٩٣ - قائمة بأهم المصطلحات العلمية

مقدمة

من المثير للدهشة عدم وجود إصدارات باللغة العربية تتناول موضوع الكشف والتقدير للكيميائيات المستخدمة في مكافحة الآفات بجميع أنواعها المبيدات سواء كانت من مصادر طبيعية أو تلك المختلفة كيميائياً بالرغم من الإستخدام المكثف لهذه السموم والعديد من المشاكل التي نجمت عن الإسراف في التطبيق خاصة ما يعرف بالتلوث البيئي بالمبيدات . لا يتعدى الأمر وجود مذكرات مختصرة لتدريس هذا العلم أو الفن لطلاب مرحلة البكالوريوس أما طلاب الدراسات العليا والبحث في الجامعات ومراكز البحث الأخرى لم يحظوا بنصيب من هذا الإهتمام .

لقد تعاظم دور وأهمية تقدير مخلفات المبيدات في المكونات البيئية العديدة وكذلك التأكد من جودة المستحضرات النهائية التي تستخدم في مكافحة الآفات على إختلاف المواد الفعالة الداخلة في تركيبها وكان لزاماً علينا نحن المشتغلون في مجال المبيدات والسموم التعريف بالمبادئ الأساسية في تحليل وتقدير مخلفات المبيدات والإصطلاحات المتداولة والمستويات المقبولة لتواجدها في الغذاء والماء والهواء الخ . واللجان الدولية المحلية والقومية المعنية بموضوع وخطورة المبيدات .

هناك مواصفات لمعامل التحليل الخاصة بالمبيدات وتوصيف مؤهلات وخبرات القائمين على شئون التحليل ومهام كل مسعول بداية من عمال التنظيف وحتى المدير المسعول عن العمل وأساليب إجراء التجارب المعملية والمحقلة وأخذ العينات وإسترجاع المبيد وعمليات التنقية ومتطلبات ما قبل التحليل وطرق القياس والتي تتفاوت في الدقة والسهولة بين المستحضرات والمخلفات .

لا يمكن بل من غير المقبول على القائمين بتحليل المبيدات الإستثمار بنزعة الوجدانية . بل من الضروري أن يتعاون الجميع من خبراء كيمياء المبيدات وجميع فروع الكيمياء الحيوية والعضوية والتحليلية وخبراء الأجهزة والبيولوجى والبيئة ورجال الصناعة فى سبيل الوصول إلى أفضل الطرق والوسائل التي تمكن من الكشف عن مخلفات المبيدات أياً كانت ضلالة الكمية الموجودة منها فى أى مكون من مكونات البيئة .

ما زالت عمليات الكشف وتقدير المخلفات فى مصافى الفنون حيث لا يعتبر من العلوم البسيطة التي يمكن الإنمافنونه وخباياه لغير المتدربين أو عديمى الخبرة . ومن المؤسف وضع بعض الإفتراضات الغير ملترزمة والغير واقعية من قبل رؤساء المعامل ومسؤولى التحليل فيما يتعلق بالقياس وصلاحيه الطرق دون الرجوع للدراسات السابقة أو لدوى الخبرة من منطلق المكابرة ومحاولة إثبات الذات مما يجعل من تمثيل النتائج أضحوكه للعاملين فى هذا المجال ولا يمكن إنكار وجود خلافات بين المعامل المختلفة وحتى بين رجال نفس المعمل فى قيم ونتائج تحليل نفس العينة بالرغم من إتباع الجميع لأسلوب واحد وطريقة واحدة بسبب الإختلاف فى الخبرة وتداول العينات وحساسية الأفراد وقد تصل هذه الإختلافات حدوداً كبيرة لذلك إتفق دولياً على إرسال العينة الواحدة لأكثر من معمل تحسباً للدقة .

المؤلف

الفصل الأول

– المبادئ الأساسية فى تحليل وتقدير مخلفات المبيدات

أولاً : المقدمة .

ثانياً : تعريفات خاصة بمخلفات المبيدات .

١ – ما المقصود بمخلفات المبيدات .

٢ – مخلفات المبيدات المعنوية .

٣ – وصف المخلفات .

٤ – التناول اليومى للمخلفات .

٥ – أقصى تناول يومى افتراضى .

٦ – التناول اليومى المحسوب .

٧ – أقصى تناول يومى محسوب .

٨ – التناول اليومى المقبول للمبيد .

٩ – مستوى المخلفات التى لا تحدث تأثيرات معاكسة ملحوظة .

١٠ – الضرر او الخطر .

١١ – معدل استهلاك الغذاء .

١٢ – العمليات الزراعية الجيدة .

١٣ – لجنة الدستور الخاصة بمخلفات المبيدات .

١٤ – وثيقة او دليل الحدود القصوى لمخلفات المبيدات .

١٥ – اللجنة المشتركة لمنظمة الفاو والصحة العالمية لدراسة وضع المخلفات .

١٦ – دور لجنة الدستور الخاصة بمخلفات المبيدات .

ثالثاً : قائمة ومهام ومسئوليات العاملين بمعمل تحليل مخلفات المبيدات .

١ - مدير المعمل .

٢ - مسئول عمليات الاستخلاص .

٣ - مسئول تنظيف العينات .

٤ - مسئول معمل التقييم الحيوى .

٥ - مسئول العينات فى معمل تحليل المخلفات .

٦ - مسئول معمل التحليل .

٧ - مسئول معمل الاجهزة .

٨ - المسئول عن تنظيف الادوات وحجرة العينات .

رابعا : قائمة بالاجهزة التى يجب توفرها فى معمل تحليل وتقدير مخلفات المبيدات .

خامساً : قائمة بالجواهر الكشفية فى معمل تحليل مخلفات المبيدات .

- اهمية المعرفة باساسيات تحليل مخلفات المبيدات وتجنب مشاكلها .

بسم الله الرحمن الرحيم

المبادئ الأساسية في تحليل وتقدير مخلفات المبيدات

أولاً : مقدمة :

* ان التطور التاريخي للمبيدات يوضح بصورة قاطعة نوعيتها وطرق التطبيق ومجالات الاستخدام وكيفية احدثات التأثيرات السامة بداية من المواد الغير عضوية كالزرنيخ والرصاص والفلورين وغيرها . ثم المواد ذات الاصل النباتي والمخدرات الغازية وانتشاء المركبات المختلفة العضوية التابعة للمجموعات الفعالة المختلفة الكلورينية والفوسفورية والكارباماتية والبيرثرينات الخلقية وغيرها . وهذه المبيدات قد تكون متخصصة لمكافحة آفة معينة « حشرة - فطر - طحلب حشائش - لا فقاريات - فقاريات ... الخ » . وقد تكون عامة او متعددة الاغراض لمكافحة أكثر من آفة .. لقد مر زمن طويل منذ ادخال هذه السموم في مكافحة الآفات ظهرت خلالها العديد من العيوب والآثار الجانبية الضارة والكوارث البيئية الراهية بعضها سجل وبعضها ظل في طلي الكتمان والسرية عمدا او بشكل غير مقصود .. وعلى الجانب الاخر لا يمكن انكار ما حققته المبيدات من فوائد في القضاء على الآفات الزراعية ومن ثم زيادة الانتاجية وتحقيق برامج الامن الغذائي في العديد من الدول المتقدمة والتنمية على حد سواء ... ومن هذين المنظورين برز مفهوم الفائدة في مقابل الضرر لمن يستخدمون المبيدات والمكافحة الكيميائية .

* من المؤسف الاشارة الى ان مفهوم الآفة والطوفان كان هو السائد عند بداية التعامل مع المبيدات والنشوة من جراء استخدامها حيث لم تكن هناك اية اعتبارات للتأثيرات الجانبية الضارة والسمية الناجمة عنها منظورة كانت ام خفية اى على المدى القصير او الطويل او تسمم حاد أو مزمن . ولم تكن هناك معايير للسمية اللهم الا معيار الجرعة او التركيز القاتل لنصف عدد حيوانات التجارب . ولقد تكونت قناعة خاطئة تسببت في العديد من الكوارث التي تم تسجيل بعضها بينما لم تسجل غالبيتها تتمثل في انه بزيادة عدد مرات استخدام المبيدات او زيادة التركيزات المستخدمة ستحقق فعالية افضل ، ومن ثم حدث اسراف شديد في استخدام هذه السموم مما ادى لحدوث مستويات عالية جدا من مخلفات المبيدات في جميع المكونات البيئية وبدون استثناء بداية بالنباتات والتربة والهواء والماء والغذاء وبجميع انواعه . وعندما تمادى الانسان في التوسع في استخدام المبيدات الثابتة حدث ما لم يكن في الحسبان حيث تفاقمت مشكلة هذه المركبات ومخلفاتها في البيئة ، ومازالت باقية حتى الآن بالرغم من ايقاف استخدامها في معظم دول العالم شاهدا ودليلا على جريمة العصر ، وما استتبع ذلك من مخاطر يئسسه شديدة على الانسان خاصة .

* المقصود بتحليل المخلفات يتمثل في الكشف عن محتوى المبيد من المادة الفعالة والتأكد من مطابقتها لما هو معلن ومكتوب في النشرات وعلى العبوات وفي بطاقات التسجيل وكذلك التأكد من مواصفات هذه المادة الفعالة والمستحضر بصورة شاملة ، ومن هذا المنطلق لا يمكن الفصل بين تحليل المستحضرات والمخلفات فقد تتماثل طرق الكشف في كليهما ولكن الفرق يتمثل في الدقة المطلوبة للتقدير وحلود المستويات المطلوب الكشف عنها حيث يسمح بنسبة من

الخطأ فى تحليل المستحضرات بينما لا يسمح بذلك فى المخلفات . لقد ظهرت فى السنوات الاخيرة نعتات شخصية لبعض البحوث فى الجامعات ومعاهد البحث العلمى يدعى اصحابها انهم متخصصون فى تحليل المبيدات وهذا يجانبه الصواب .. لأن التحليل فن وذوق وممارسة وخبرة . ان رجل التحليل يختلف عن القائم بالتحليل ، فالأول هو مكتشف طريقة التحليل نفسها او من اضاف تحويرات على طريقة معروفة تحقيقاً للدقة تسهلاً للكشف ، اما ممارس التحليل يتمثل فى باحث او فنى عنده مبادئ هذا العلم ويقوم بتنفيذ خطوات متتابعة تؤدي فى النهاية للكشف عن المخلفات .. ولست فى حاجة للتأكيد ونحن على مشارف القرن العشرين ان الطفرة التى حدثت فى الاجهزة العلمية رهية فلعبت ادواراً كثيرة كان يقوم بها الانسان للكشف عن الكيمياء . والآن اقول بكل صراحة ان الباحث الحقيقى فى هذا المجال هو الذى يستطيع نتيجة للخبرات الكثيرة التى تحصل عليها من ممارسة التحليل استقراء النتائج وتمثيلها والخروج باستنتاجات حقيقية بعيدة عن النزعات والاهواء الشخصية .

* لا يمكن للقائمون على تحليل المبيدات الاستئثار بنزعة الوحداية فى هذا المجال حيث لا بد - بل من الضرورى - ان يتعاون الجميع فى مجالات المبيدات والكيمياء الحيوية والعضوية والتحليلية والاجهزة والبيولوجيون .. وغيرهم فى سبيل الوصول الى افضل الطرق والوسائل فى الكشف عن مخلفات المبيدات فى اى من مكونات البيئة . ان نظرة متأنية لآى طريقة تحليل لاى مبيد توضح الجهد والعرق اللذين بذلا فى سبيل وضع هذه الطريقة بداية من اخذ العينات والوزن والتجهيز والاستخلاص والتفقية وما قبل التقدير ثم التقدير نفسه وتمثيل النتائج وعمل المنحنيات القياسية الى اخر هذه الخطوات . وليكن معلوما ان اى تجاهل لاساسيات المعرفة المختلفة فى مجالات الكيمياء والطبيعة والبيولوجى كفيلة بفشل التحليل تماماً ، كم من كوارث حدثت من جراء عدم فهم خطورة مهمة القائم بالتحليل .

* منذ بداية استخدام المبيدات وحتى اوائل السبعينيات كانت المهام الملقاة على القائم بالتحليل سهلة وقليلة بسبب قلة عدد المبيدات التى كانت موجودة فى ذلك الوقت من ناحية وبداية الاجهزة التى كانت سائدة مقارنة بما هو موجود حالياً ، وكذلك غياب الاعتبارات البيئية الخاصة بالتلوث والأمان ، ولم يكن مطلوباً لتسجيل المركب أية بيانات عن المخلفات عكس ما هو ضرورى الآن ولم يكن المنتج على دراية امينة بمخاطر المبيدات والتأثيرات الجانبية على الصحة العامة ، كما كان القائمون على التحليل على دراية باساليب الكشف عن المركبات الغير عضوية مثل الزرنيخ والرصاص والروتينون وكذلك المركبات النباتية الأصل كالنيكوتين والروتينون والبيرثروم وغيرها . اما الآن فقد تنوعت انواع المبيدات بدرجة مذهلة وتثير الاعجاب حتى أن الكشف عن مركب واحد الآن نوعاً من الرفاهية والندرة حيث أن الاسراف فى استخدام المبيدات واللجوء الى الخلط العشوائى أدى الى تواجد أكثر من مبيد فى نفس المكون البيئى مما دعا الى تطوير طريقة الكشف المتعدد للمخلفات Multi-residue analysis ، ومن ثم اصبحت مهمة القائم بتحليل المبيدات خاصة المخلفات صعبة بل شديدة الصعوبة ، وهذا يتأكد من القاء نظرة على البحوث المنشورة والتقارير الرسمية الخاصة باستكشاف تواجد المخلفات فى المكونات البيئية المختلفة .

* لقد ذكرت مقولة لا يمكن ان ننسى في المرجع العظيم الذى كتبه استاذ التحليل Gunther وزميله Zweig من ان القائم بالكشف عن مخلفات المبيدات فى الوقت الحالى كمن يبحث عن ابرة فى كومة كبيرة من القش ، وبالتى تكون ابرة بل كميات غاية فى الصغر تتراوح من اجزاء فى المليون الى اجزاء فى البليون (١٠-٦ - ١٠-٩) وقد تقل عن ذلك لتصل الى ١٠-١٢ - ١٨-١٠ على خلاف ما هو معروف مع مستحضرات المبيدات حيث الكشف عن ملليجرامات او اقل قليلا هو الهدف . ان الكشف عن اجزاء فى المليون يعنى الكشف عن واحد ميكروجرام فى جرام من المادة . ولما كانت امكانيات التحليل فى المعامل المجهزة فى الدول النامية لا تستطيع ان تكشف اقل من ١٠ ميكروجرام لذلك كان على القائم بالتحليل تقدير مخلفات المبيد فى ١٠ جم وما يقابل ذلك من عقبات كثيرة فى اخذ العينات وتجهيزها والاستخلاص والتخلص من الشوائب وهى كثيرة والتى من الممكن ان تتداخل مع الكشف النهائى عن المبيد نفسه .

* على القارئ ان يتصور صعوبة الكشف عن مخلفات مبيد او مادة هورمونية فى ثمرة خوخ مرشوشة او مزروعة فى ارض ملوثة او تروى بماء ملوث ، ولنا ان نخمن كمية المبيد المتوقع وجودها وهى فى كثير من الاحيان تكون غاية فى الصغر ولا يمكن الكشف عنها ، وفى هذا المقام اولد الاشارة الى ان بعض الزملاء الباحث عند تقدير مخلفات المبيدات وعندما لا تتمكن وسائل الكشف من تحديد الكمية يذكر الباحث الرقم (صفر) اى لا توجد مخلفات فى العينة محل التحليل ، ومن الافضل ان يذكر بدلا من ذلك انه يتوقع وجود كميات غاية فى الضالة لم يتمكن من الكشف عنها "Non-detected" .. ونفس الشئ يقال على مستويات المبيدات فى مياه الشرب ونهر النيل والأعشاب التى تستخرج منها الأدوية والعقاقير الطبية واللحوم بانواعها المختلفة واللبن ومنتجاته والخضفر والفاكهة الطازجة والمعلبات وعسل النحل .. الخ ، بالاضافة الى المواد الاضافية التى تضاف للغذاء بهدف الحفظ او التلوين او مكسبات الطعم وغيرها . وللخروج من هذا الوضع يجب الإلمام بمفهوم وامكانيات الاختبارات التأكيدي او "Confirmatory tests" سواء كانت كيميائية او حيوية . وهناك اسلوب التقوية "Fortification" أى اضافة كمية معلومة من المبيد القياسى الى العينة الخالية منه كما اوضحت التقديرات ثم قياس الاستجابة وحساب الفرق ان وجد بما يدل على وجود مخلفات فى العينة .

* الخبرة الشخصية للقائم بعملية التحليل فى غاية الاهمية . فالشخص الخبير يستطيع ان يصل للهدف بأقصر وأسهل الطرق مما يوفر الوقت والجهد والكيميائيات ومن ثم تقليل تكاليف التحليل والتى أصبحت باهظة فى الوقت الحالى . لا يمكن تصور ما حدث فى احد المعامل حيث شاهد مؤلف هذا الكتاب احد الزملاء يختبر كل ما هو موجود فى معمله من جواهر كشافة ملونة للكشف عن أحد المبيدات بشكل عشوائى . مع ان الاجتهاد مطلوب لكن له حدود وضوابط فلا يوجد مبيد بدون طرق (اكثر من طريقة) للكشف عن مخلفاته فى جميع الأوساط البيئية وكذلك تقدير نسبة المادة الفعالة فى مستحضراته . ففى الوقت الحالى لا أتصور ألا يكون القائم بالتحليل

على دراية بنوعية الكشف في أجهزة الكروماتوجرافى الغازى الذى يستخدم مع المبيدات الكلورينية أو الفوسفورية أو الكاربامات وحلود الطرق الحيوية الانزيمية وشروط الكائن الحى الذى يستخدم فى الاختبار . ونفس الشئ يقال على عمل المنحنى القياسى للمبيد وكيفية الاستفادة به ومفهوم عينات المقارنة Blank وضربتها . وعلى القائم بالتحليل أن يتعلم أسس الطرق الاسبيكتروفوتومترية والكروماتوجرافية واستخدام النظائر المشعة والبيوكيميائية والحيوية وغيرها .

* تجدر الاشارة الى أن تقدير المخلفات ليس معناه بالضرورة توفر معامل متقدمة بها أجهزة متقدمة كالكروماتوجرافى الغازى العادى او ذو المقدرة الفائقة والاسبيكتروفوتومتر وغيرها ولكن الأهم هو توافر الخبرات والفنيين والكفاءات المترتبة بصرف النظر عن الشهادات العلمية التى تحملها وعلى نفس المستوى يجب أن يتوفر فى المعمل الزجاجيات المناسبة والجواهر الكشفية والأجهزة الملازمة حتى وان كانت بدائية . واود القول انه لا غشاضة ولا ينقص من كفاءة أى باحث ان يتلقى دورات تدريبية عن أساسيات تحليل المبيدات فما زلت اذكر بالعرفان الدورة التدريبية التى شاركت فيها وتلقيت تدريباً عن كيفية تجهيز الزجاجيات الخاصة بتقدير مخلفات المبيدات باستخدام اجهزة الكروماتوجرافى الغازى والتى عقدت بكلية الزراعة جامعة الاسكندرية بالتعاون مع الجامعات الامريكية فى الثمانينيات . واكرر أن تجاهل الأساسيات والأشياء الصغيرة قد تكون سبباً فى فشل التحليل . هل يمكن تصور استخدام ماء الحنفية بما فيه من كلور فى تقدير المبيدات الكلورينية بالطرق العيانية او بالكروماتوجرافى الورقى .

* قد يتجاهل القائم بالتحليل عينة المقارنة ومن لم يتحصل على بيانات خاطئة تماماً قد تبنى عليها سياسات او تتسبب فى فشل بروتوكولات تقدير المخلفات ، فقد مرت بتجربة من هذا القبيل أثناء اجراء تجاربى فى الماجستير على موضوع « مآل بعض المبيدات فى التربة » حيث احضرت عينات من التربة السلتية من احد الجزر التى كانت تظهر فى النيل بعد انحسار مياه الفيضان وتم معاملتها بمبيد السيفين ٨٥٪ الكارباماتى بتركيز معين وقمت بالكشف عن مخلفات المركب بعد فترات مختلفة وبعد تعريض التربة لمعاملات معينة كالحرارة والرطوبة والتعقيم وغير ذلك ، وعند التقدير وجدت أن كمية المبيد المسترجعة تعادل عشرات الأضعاف لما قمت باضافته فى بداية التجربة وكانت مشكلة كبيرة حاولت معرفة السبب وبعد مجهود مضنى اكتشفت ان التربة السلتية تحتوى على مجموعة الالفانفثول بكمية كبيرة جداً وهى نفس المجموعة التى يتحول اليها مبيد السيفين بعد اضافة الصودا الكاوية وهى التى تعطى اللون الأزرق مع صبغة الديازونيوم . من هذا الوقت وأنا احذر زملاي من خطورة تناسى تجربة المقارنة عند تقدير المخلفات حيث ان الجواهر الكشفية القياسية اذا اضيفت الى بعضها يتكون لون قد يتداخل مع التقدير اللونى للمبيدات خاصة التقديرات الانزيمية .

* ما زالت عمليات الكشف وتقدير المخلفات فى مصافى الفنون حيث لا يعتبر من العلوم البسيطة التى يمكن الايام بفنونه وخباياه لغير المتدربين او عديمى الخبرة . ومن المؤسف وضع بعض الافتراضات الغير ملتزمة والغير واقعية من قبل رؤساء المعامل ومسؤولى التحليل فيما يتعلق

بالقياس وصلاحيه الطرق دون الرجوع للدراسات السابقة أو لذوى الخبرة من منطلق المكابرة ومحاوله اثبات الذات مما يجعل من تمثيل النتائج أضحوكة للعاملين فى هذا المجال . ولا يمكن انكار وجود خلافات بين المعامل المختلفة وحتى بين رجال نفس المعمل فى قيم ونتائج تحليل نفس العينة بالرغم من اتباع الجميع لاسلوب واحد وطريقة واحدة بسبب الاختلاف فى الخبرة وتداول العينات وحساسية الافراد وقد تصل هذه الاختلافات حدودا كبيرة لذلك اتفق دوليا على ارسال العينة الواحدة لأكثر من معمل تحسبا للدقة ولقد حاولنا جاهدين اقناع الزملاء مسؤولى التوصيات فى مصر بضرورة اشراك معامل أخرى مع المعمل المركزى للمبيدات فى تحليل العينات وكان ذلك من اغرب الامور التى اعترضنا عليها بسبب ادعاء البعض بوحداية التحليل متناسين تواصل الاجيال ومقدرة الشباب الصاعد فى هذا المجال .. واخيرا وبعد جهد جهيد تحقق ما طالبنا به لسنوات طويلة .

* يجب أن يتوفر فى معمل التحليل ثلاثة خاصة ذات تبريد كبير تحتوى على العينات القياسية للمبيدات ولا اتصور ان يخلو أى معمل يعمل فى مجال الكشف عن المخلفات من هذه العينات Standards وانصح بعدم الاعتماد على الغير فى الحصول عليها حيث أن هناك مصدرين مولوق فيهما الأولى الشركات المنتجة وهى صاحبة المصلحة فى عدم صدور بيانات خاطئة عن مركباتها بما ينعكس على المبيعات واستمرارية المركبات فى الأسواق . والثانية شركات الكيماويات المتخصصة مثل Sigma وغيرها ويمكن لوكالة حماية البيئة الأمريكية EPA ان تقوم بهذا الدور . وفى مصر ومنذ سنوات تم اصدار تعليمات بعدم تجريب المبيدات الا بعد ان تقدم الشركات العينات القياسية لها وتم تنفيذ ذلك ولا أحد يعلم أين هذه المركبات التى كان من المفروض أن تكون فى متناول من يطلبها وتبعاً لبروتوكولات معينة يوافق عليها مسؤولى الرقابة وبحوث البيئة . ولكم حذرت الزملاء بضرورة التأكد من نوعية المادة الفعالة ونسبة المركب فيها قبل اجراء تجارب تحليل المخلفات فى حالة حصولهم عليها من غير المصادر السابقة أى من زملاء اخرين مثلاً . ويجب أن تخضع حركة المواد الفعالة بين المعامل المختلفة لعملية التدوين فى سجلات رسمية يوضع فيها جميع البيانات الخاصة بالعينة ومواصفاتها وظروف التخزين والتداول .

* من أهم العوامل المحددة لكفاءة تقدير مخلفات المبيدات ودقتها ومدى تمثيلها لواقع العينات من حيث عددها واسلوب جمعها والحصول عليها ونقلها من مكان التجارب الى المعامل واسلوب تقسيمها الى تحت عينات صغيرة والحفظ والتخزين . لا يراودنى شك فى أن اختلاف النتائج يرجع فى المقام الاول الى عدم الدقة فى أخذ والتعامل مع العينات . ومن المؤسف أنه ومع معرفة جميع العاملين فى مجال مخلفات المبيدات بأهمية هذه العامل الا أنهم وبدون استثناء يظلون مسؤولي هذا العمل إلى عمال المعامل غير مدركين لخطورة الموقف واحيانا يكون التحيز سمة غالبية على بعض ضعاف النفوس فيجمعون العينات من أماكن متفرقة عليها لصالح هيئة ما ، وقد يكون الجهل هو المسئول ولا تقبل اعتذار من قبل مسؤولي المعامل لأية قصور فى هذا المجال . من يقول ويصرح بجمع الاوراق النباتية المرشوشة من الأوراق العليا فقط أو من حواف الحقل ونفس الشئ فى عينات الاسماك واللحوم والماء والهواء ... الخ .

* تؤخذ اعتبارات عديدة عند تصميم تجارب المخلفات من أهمها وضع برنامج دقيق لاختد العينات ونظام التحليل ومن الضروري أن تؤخذ نتائج المخلفات من عدد اعتباري من التجارب ومن مناطق جغرافية متعددة وخلال فترات متماثلة من السنة ومن حقول تماثلت فيها العمليات الزراعية . يجب أن تجرى معظم تجارب المخلفات باستخدام المستحضرات التجارية للمبيدات حيث لا معنى لاجرائها بتحضيرات معملية لأن سلوك المبيد لا بد وأن يتأثر بطبيعة المستحضر . وقد أجريت دراسة في اواخر الستينيات ثبت منها تأثير هذا العامل بدرجة كبيرة على مخلفات وتمثيل بعض المبيدات الفوسفورية على الخضر والفاكهة في مصر . كما يجب اجراء تجارب المخلفات بتطبيق المبيد بنفس الآلات التي يستخدمها الفلاح وينفس الاسلوب مع الحرص الشديد على ضرورة تحقيق تجانس في توزيع المركب على الوسط محل الدراسة .

* ولقد حذرنا مرارا ومازلنا من ضرورة اجراء تجارب المخلفات في مناطق معينة وبأسلوب يتفق مع البروتوكولات العالمية في هذا الشأن والذي اقرته اللجان المعنية بهذا الموضوع في منظمة الاغذية والزراعة FAO . فلا معنى للكشف عن المخلفات في الخضر المزروعة في أرض ملوثة لم يجرى تحديد درجة ونوعية للملوثات بها ونفس الشيء في الاسماك . ليكون معلوما بوجود العديد من العوامل التي تؤثر على تواجد المخلفات ومن أهمها طبيعة وتركيب المبيد والكمية المستخدمة منه ووقت التطبيق وأسلوبه ايضا ولا يمكن اغفال حدوث تداخلات بين تأثيرات هذه العوامل ومن ثم وجب أن تؤخذ في الاعتبار . وما زال في الناكزة وخلال اشتراكى في أحد المؤتمرات بكلية الزراعة جامعة الاسكندرية أن نتائج احد البحوث أعطت رقما واحدا للمخلفات عند رش احد المبيدات وعلى محاصيل خضر مختلفة بعد الرش مباشرة وكان طبيعة السطح العامل لا تلعب اى دور في هذا الخصوص .

* لا بد من الإشارة الى أهمية عدد المكررات خاصة في تجارب المخلفات ، وقد لاحظت انه بسبب غلو وارتفاع أسعار الجواهر الكاشفة المستخدمة في تقدير المخلفات لجوء بعض البحات الى تقليل عدد العينات بل وعدد المكررات بدرجة تحيز مقبولة تحت دعوى أنه لا داعى لاجراء تحليلات احصائية لتأكيد معنوية النتائج التي اسفر عنها التحليل . في هذا المقام اؤكد مرة أخرى على ضرورة وحتمية الالتزام ببروتوكولات تقدير المخلفات وضرورة العمل على عينات ممثلة للواقع وكذلك التعامل مع الحد الأدنى من المكررات وهذا أضعف الايمان . ولقد كنت مع الذين لا يؤمنون بالتحليل الإحصائي لنتائج المخلفات ولكنى الآن اؤكد على ضرورة اجراء تحليلات المعنوية وتحديد معايير المخلفات للمقارنة بين المعاملات المختلفة .

* عند اجراء تجارب المخلفات يجب أن تجرى على مستويين من التركيزات الأول الموصى به والثاني ضعف ذلك التركيز مع ضرورة التأكد من عدم انجراف المبيد من قطعة تجريبية لأخرى عن طريق وضع الحواجز وتوجيه الرش بما يقلل من انتقال المبيد من نقطة لأخرى . قد يؤدي حرص القائم على تجارب المخلفات من الحصول على نتائج دقيقة ومثلة للواقع الى قيامه بجمع جميع النباتات الموجودة في القطعة التجريبية ، وهذا هراء كبير ، ولا يعتبر ضمنا لتحقيق هذا الهدف .

ومن الافضل ضمان التصميم الجيد لتجربة المخلفات وضمان التوزيع المتجانس للمبيد فى داخل القطعة التجريبية الواحدة ونفس المنوال فى جميع القطع الأخرى . كما يجب تجنب حدوث اى تلوث للعينات الحقلية خلال عمليات أخذ العينات والنقل والتخزين والعمليات التالية للتجهيز وغيرها .

* من المؤسف القول أنه فى كثير من الدول النامية ومن بينها مصر لا يستفاد من نتائج المخلفات فى حالة توفرها حيث أن عدم التزام الفلاحون بفترة الأمان ما بين استخدام المبيد والجمع والتسويق تجعل من غير الممكن بل من المستحيل تحديد صورة واضحة ودقيقة للمخلفات فى المحاصيل خاصة تلك التى تؤكل طازجة ولتفادى هذا الوضع يجب التشديد على احترام فترة الأمان وتغريم كل من يخالفها لخطورة ذلك على صحة المستهلك الحلى وتسببها فى فشل سياسة التصدير للدول المتقدمة . والامثلة كثيرة وصارخة بداية من البطاطس والخضر ونهاية بالنباتات العطرية .. ومن المشاهد المألوفة أن نجد بطاطس بيضاء اللون بسبب مساحيق التعفير الخطيرة وهذه البطاطس كانت معدة اصلا للتقاولى وليس للاستهلاك ولكن لأسباب بعضها معروف ومعظمها مجهول نجد طريقها للأسواق . ولقد سعدت عندما الفى تسجيل مبيد السومثيون ٣ % مسحوق تعفير من التوصيات بسبب وجود مخلفات داخل البطاطس حفاظا على صحة المستهلك المصرى الكريم بالرغم من تبعية هذه المركب للشركة التى اقدم لها الاستشارات العلمية وبالرغم من تقييد استخدامه على التقاولى .

* اكرر مرة اخرى انه لا اجتهاد فى طرق تحليل المخلفات اذا كان ذلك يتم بهدف التسجيل او الرقابة او التصدير ، وعلى القائل بهذه المهمة الشاقة فى معامل التحليل ان يتبع البروتوكول بحذافيره دون تعديل مهما كان طفيفا . ليس من مهنة هذا الرجل ايجاد طريقة جديدة للكشف عن مبيد ما ولكن هذه مسؤولية البحث العلمى فى معامل الجامعات والشركات المنتجة للمبيدات . ان محاولة اجراء تعديل ولو طفيف فى طريقة التحليل المعروف لمبيد ما بما يتلاءم مع محصول او عينة ذات طبيعة خاصة ليس بالأمر السهل ويتطلب مهارات خاصة وخبرات فائقة . أن اختيار الطريقة المناسبة للتحليل من اصعب الامور فى مجال المخلفات حيث المسؤولية تتمثل فى الكشف عن المركب الاصلى ونواتج تمثيله وتحويله فى الوسط مجال التحليل كيميا ونوعيا . يجب أن تتميز الطريقة بالبساطة والسهولة وامكانية التنفيذ بالإضافة الى الحساسية الفائقة لأننا بصدد الكشف عن اثار كما سبق القول ويجب ان نتخذ حساسية الطريقة على كل سلعة او نوع من العينات . وهو ما يعرف بمعدل الاسترجاع Rate of recovery . ان الجهل أو التجاهل الخاص بإقامة المنحنيات القياسية للمبيدات Standard calibration curves ومعدل الإسترجاع يعنى عدم خبرة والملم بمفهوم تحليل المبيدات بوجه عام والمخلفات بوجه خاص .

* ومن الضروري بل من البديهي ضرورة وصف طريقة تقدير المخلفات بوضوح وبتفصيل كاف حتى وإن كان ملا حتى يمكن لأى مبتدئ قليل الخبرة ان يتحصل على نتائج دقيقة عند الالتزام بتنفيذ خطواتها . لا غشاضة أن تجرى عمليات تقدير المخلفات فى أكثر من محل كما

سبق ، وفي حالة اختلاف النتائج يمكن تبادل العينات بين هذه المعامل دون حساسية . وما زلت اذكر الدراسة الرائدة التي تم فيها تقييم بيانات مخلفات الكارتاب على المحاصيل المزروعة خصيصا لتقدير المخلفات وإبعت نفس طرق التحليل للكشف عن المبيد في حدود ٠,٠٠٥ مللجم / كجم ، وقد اوضحت نتائج التحليل الاحصائي لهذه البيانات وجود اختلافات كبيرة بين المعامل المختلفة كانت تصل في بعض الأحيان الى عشرة أمثال ، وكان التفسير آنذاك ان هذه الاختلافات ترجع الى عدم تجانس وتمائل طرق التطبيق وصعوبات أخذ العينات .

* في الآونة الأخيرة شاع استخدام مسئولى تقدير المخلفات للعينات القياسية الداخلية Inter-nal standards ولا غرضاً في ذلك لأهميتها ودقة الاعتماد عليها لتصحيح اخطاء القياس والتقدير بصفة شاملة . وتماديا مع هذا الوضع تناسى المسئولين اهمية المنحنى القياسى ومعدل الاسترجاع . وقد شاهدت بنفسى بعض الزملاء فى أحد المصانع يقيم المنحنى القياسى بنقطة واحدة وهذا هراء كبير .. لقد استفدت شخصيا وزملاي من أهمية المواد القياسية الداخلية حيث كنا نعانى من نقاوة الجواهر الكاشفة وتذبذب التيار الكهربى وتفاوت كفاءة القائمون بالعمل .. لذلك وجب ترسيخ مفهوم الاستفادة المثلى من كل ما هو متاح من وسائل وتكنولوجيا تؤدى الى الحصول على بيانات دقيقة من المخلفات الخاصة بالسموم ومن بينها المبيدات فى المكونات البيئية المختلفة .

* يجب التنويه الى أهمية ومفهوم استقراء النتائج الخاصة بمخلفات المبيدات حيث يتطلب خبرة ومهارة واعتقادي الشخصى - وقد يتفق مع الكثيرون - أنها اهم من التركيز على خطوات التحليل لان هذا الشئ متعارف عليه ... ونسأل ما معنى وجود بيانات لا يستفاد منها ؟ لا يمكن الزام مسئولى تقدير المخلفات باجراء ذلك على جميع المحاصيل والسلع والعينات البيئية بسبب ارتفاع التكاليف والجهد والوقت كما سبق الاشارة لذلك ، ولكن اتفق من خلال المنظمات المسؤولة عن مخلفات المبيدات اجراء تجارب المخلفات على محاصيل معينة تمثل مجموعات معينة بحيث يمكن باستقراء النتائج الخاصة بمحصول ما التنبؤ بوضع المخلفات على المحصول الآخر من نفس المجموعة . ولزيادة الثقة فى بيانات الاستقراء اتفق على اهمية مصاحبتها بمعلومات تفصيلية عن تمثيل ومسار اختفاء المبيد فى واحد أو أكثر من محاصيل أو عينات المجموعة . والاستقراء له محدوداته وضوابطه حيث يجرى على محاصيل تنمو تحت نفس الظروف وتتشابه فى كثير من الصفات الخاصة بالنمو والشكل الظاهري والتشريحي وغير ذلك ... ونظرا لعدم توفر هذا الاتجاه العقلانى فى الدول النامية ليس أمامنا الا ان نجرى تجارب المخلفات على جميع المحاصيل والسلع او نعتمد على البيانات التى حددتها الدول المتقدمة مثل امريكا - اليابان - إنجلترا - فرنسا - ألمانيا . والامال ما زال معقودا على تعاون الدول العربية فى هذا السبيل حيث الامكانيات والقوى البشرية متاحة ومتوفرة .

* ان دليل تقييم وتصميم تجارب مخلفات المبيدات الذى وضعته منظمة الاغذية والزراعة (FAO) يعتبر النموذج المناسب لأى زميل يعمل فى هذا المجال . لكل مرحلة مشاكلها الخاصة ونظرتها للحلول المناسبة ومع ذلك هناك قاعدة واحدة لا تقبل التغيير ولكنها ماثار جدل بصورة

مستمرة من قبل المزارعين والمصدرين للسلع الزراعية وغيرها مؤداها « حدود التقدير دائما منخفضة ولا يمكن أن تحظى بالقبول » وهناك بعض المبيدات يصل بحد المسموح بتواجده منها في المواد الغذائية جزء أو أجزاء في البليون وهناك محاولات مستمرة لرفع حدود هذه المخلفات مما ييسر من عمليات التصدير ولكنها تحتاج لوقت وجهد .

ولا يمكن أن أنهي هذه المقدمة دون الإشارة الى ما يعرف بالعمليات المعملية الجيدة (GLP) أى اجراء الخطوات الجيدة فى معامل التحليل وقبل الخطوة الأخيرة الخاصة بالكشف والتقدير . ونفس الشئ يقال عن مفهوم مخلفات المبيد المؤثرة Significant أو المعنوية وقبل ان تطلق على المخلفات هذا الاصطلاح يجب ان تتأكد أنها حدثت فى ظل استخدام مناسب وتحت ظروف حقيقية وليست عرضية او غير حقيقية مع الأخذ فى الاعتبار التركيب الكيميائى والمواصفات الطبيعية والكيميائية وكذلك التأثيرات الفوتوكيميولوجية والسلوك البيئى خاصة الثبات والانحيار والتمثيل والتحول لمركبات أخرى . ويجب ان يعبر عن المخلفات كميا ونوعيا أى ملليجرام/ كيلوجرام .

تستخدم بيانات المخلفات فى تقدير المستويات القصوى للمخلفات MRL's بشرط أن يكون المبيد قد استخدم فى تجارب المخلفات طبقاً للعمليات الزراعية المناسبة (GAP) والبيانات أعطت من التجارب المشرف عليها وأخذت العينات وجهزت وأجزت عمليات التقدير والكشف بها للعمليات المعملية الجيدة (GLP) مع الأخذ فى الاعتبار عوامل التطبيق والعوامل المتعلقة بالمحصول والبيئة وعوامل الاختفاء .

ثانيا : تعريفات خاصة بمخلفات المبيدات Definitions :

١ - ما المقصود بمخلفات المبيد A pesticide residue

أى مادة أو مخلوط من المبيدات الموجودة فى أو على أى وسط بعد استخدام المبيد ويشمل ذلك جميع نواتج تحوّل المركب ومثلاته ونواتج التفاعلات والشوائب وهذا التعريف تنقصه الدقة حيث لا يشير الى معنوية تواجد المخلفات . وقد اتفق فى لجنة الاتحاد الدولى للمكيميائيات النقية والتطبيقية IUPAC أن تؤخذ السلع التالية فى الاعتبار عند تقييم موقف مخلفات المبيد وخطورته على الانسان والحيوان : (١) السلع الزراعية ومنها المنتجات المصنعة أو المجهزة بها فيها تلك التى يستهلكها الانسان ، (٢) السلع الزراعية ومشتقاتها من المنتجات التى تستخدم فى تغذية الحيوانات ، (٣) المنتجات الغذائية المجهزة من الحيوانات المعاملة بالمبيدات أو مأخوذة من قطع يرعى أو يوجد فى أماكن معاملة بالمبيدات ، (٤) المنتجات المخزونة التى عوملت أو تعرضت للمبيد وتستخدم فى غذاء الانسان والحيوان ، (٥) المحاصيل المتعاقبة التى تزرع فى مناطق سبق معاملتها بالمبيدات ، (٦) مياه الشرب والهواء ، (٧) الكائنات الغير مستهدفة والتى تتعرض للمبيدات وتستخدم فى غذاء الانسان مثل الأسماك والقواقع والطيور ... الخ .

٢ - مخلفات المبيدات المعنوية : A significant pesticide residue :

من الضروري وقبل أن يطلق هذا الاصطلاح على مخلفات أى مبيد التأكد ان هذه المخلفات حدثت فى ظل استخدام مناسب وتحت ظروف حقيقية ليست تجريبية أو بفرض محاكاة الواقع . يتوقف هذا التحديد بمعنوية المخلفات على الصفات التوكسيكولوجية للمادة أو المواد الموجودة فى المخلفات ودرجة التعرض لهذه المخلفات . ويحدث تعضيد لهذا الوضع فى حالة ما اذا كان للمخلفات تأثيرات ضارة بصحة الانسان أو الحيوان أو الكائنات الأخرى غير المستهدفة عند التركيزات التى وجدت كمخلفات عند التطبيق الحقيقى فى الحقول وكذلك فى حالة المركبات شديدة الثبات فى الوسط المدروس (تربة - ماء ... الخ) على الأقل تكون فترة نصف الحياة للمركب ٦ شهور أو أكثر ونفس الشئ فى حالة تحول المبيد الى مركبات أكثر سمية وكذلك حدوث تراكم أو تعاضد حيوى وهذا كله يتوقف على الخواص الطبيعية والكيميائية للمركب .

٣ - وصف المخلفات : Description :

توصف المخلفات كميًا ونوعيًا حيث يعبر عن الكميات بالملليجرام لكل كيلوجرام من الوسط الذى توجد فيه المخلفات $mg / kg-1$ فى حالة الوصف النوعى يجب ان يتضمن ذلك الصفات الطبيعية والكيميائية لجميع مكونات المخلفات خاصة فى المحاصيل الطازجة التى تمثل أكثر من ١٠٪ من المخلفات الكلية عند اخذ المينيات . عندما تكون المخلفات الكلية أقل من ١ مللجم / كجم^١ لا تكون هناك حاجة لتقدير المخلفات من وجهة نظر بعض القائمون بالتحليل . أما فى حالة المبيدات المعروف لها تأثيرات توكسيكولوجية ضارة يجب التوصيف والتعريف للمخلفات حتى اذا كانت موجودة بتركيزات بسيطة للغاية .

٤ - التناول اليومي للمخلفات : Pesticide residue intake :

يقصد بها كمية المبيدات التى يتناولها الفرد يوميا من جراء أكل وعضم الطعام الملوث بالمبيدات ويعبر عنه بالملليجرام مبيد لكل شخص فى اليوم الواحد .

٥ - أقصى تناول يومي افتراضى (TMDI) : Theoretical Maximum daily intake :

وهو تنبؤ لأقصى كمية مخلفات يتناولها الانسان يوميا بناء على الافتراضات الخاصة بالحدود القصوى للمخلفات الموجودة فى المواد الغذائية ومتوسط الاستهلاك اليومي من الغذاء لكل فرد . ويعبر عن هذا المعيار بالملليجرام مخلفات لكل فرد .

٦ - التناول اليومي المحسوب : Estimated daily intake :

وهو يعبر عن التنبؤ بمستوى المخلفات اليومي بناء على التقديرات السليمة لمستويات المخلفات فى الطعام والبيانات الدقيقة لحدلات استهلاك الغذاء لمجتمع معين . وحساب المخلفات يبنى على

اعتبارات الاستخدام والتطبيق ومدى تلوث المواد الغذائية المعاملة وكمية التلوث فى المواد المحلية أو المستوردة . ويعبر عن هذا المعيار بالليجرام مييد لكل فرد .

٧ - أقصى تناول يومي محسوب (EMDI) Estimated Maximum daily intake :

وهو التنبؤ عن أقصى كمية مخلفات يتناولها الفرد يوميا وتبنى على الافتراضات الخاصة بمتوسط الاستهلاك اليومي للفرد من الطعام وكمية المخلفات القصوى فى الاجزاء التى تؤكل طازجة ويؤخذ فى الحسبان عند حساب هذا المعيار نقص أو زيادة المخلفات نتيجة لعمليات التجهيز والطهى والتجهيز التجارى وتصنيع المواد الغذائية . ويعبر عن المعيار بالملليجرام من المييد لكل فرد .

٨ - التناول اليومي المقبول للمييد (ADI) Acceptable daily intake :

هو كمية المييد التى يتناولها الانسان يوميا مع الطعام خلال فترة حياته دون ان تحدث اية اضرار ، وتعتمد هذه المستويات على جميع الحقائق المتفق عليها خلال هذه الفترة ويعبر عنها بالملليجرام لكل كيلوجرام من وزن الجسم .

٩ - مستوى مخلفات التى لا تحدث تأثيرات معاكسة ملحوظة :

No observable Adverse effect level (NOAEL)

وهو يعنى اعلى جرعة تعامل بها حيوانات التجارب دون ان تحدث اية تأثيرات سامة ملحوظة ، ويعبر عنه بالملليجرام لكل كيلوجرام من وزن الجسم لكل يوم .

١٠ - الضرر أو الخطر Risk :

هو مفهوم احصائى يعبر عن التأثيرات المعاكسة التى تحدث من جراء التعرض لأى مادة كيميائية . وقد يعبر عنه ضرر مطلق بمعنى زيادة الخطر مع التعرض او الضرر النسبى بمعنى النسبة بين الاخطار فى الكائنات المعرضة والغير معرضة .

١١ - معدل استهلاك الغذاء Food consumption :

تعنى متوسط معدل استهلاك الغذاء اليومي لكل فرد من طعام معين أو مجموعة اطعمة فى مجتمع معين ، ويعبر عنه بعدد كيلوجرامات الطعام التى يتناولها الفرد الواحد كل يوم .

١٢ - العمليات الزراعية الجيدة (CAP) Good agricultural practice :

تعنى فى مجال استخدام المبيدات الأساليب الموصى بها من قبل الجهات الرسمية المسؤولة لاستعمال المبيدات تحت الظروف العملية عند اى مرحلة من مراحل الانتاج والتخزين والنقل والتوزيع والتجهيز الخاص بالمواد الغذائية والزراعية واعلاف الحيوانات مع الأخذ فى الاعتبار الفروق

فى المتطلبات بين المناطق المختلفة . وهذا يتضمن التحديد الدقيق للكميات الصغرى اللازمة لتحقيق مكافحة مقبولة بحيث تستخدم بأسلوب وطريقة تصل بالمخلفات للمستويات المقبولة من الناحيتين العملية والتوكسيكولوجية .

١٣ - لجنة الدستور الخاصة بمخلفات المبيدات

Codex committee on pesticide residues

وهى لجنة أساسية منبثقة من وكالة الأغذية ، وتضطلع بمسؤولية وضع الحدود القصوى لمخلفات المبيدات فى الطعام والأعلاف كما تقوم بوضع قوائم أولويات تقييم المبيدات بواسطة اللجنة المشتركة الزراعية والصحية (FAO/WHO (JMPR ، وكذلك تحديد طرق اخذ العينات وتقدير مخلفات المبيدات فى الأغذية والأعلاف ، بالإضافة الى تحديد اية اعتبارات اخرى ذات علاقة بأمان مخلفات المبيدات فى هذه المواد الغذائية . وباب العضوية فى هذه اللجنة مفتوح لجميع اعضاء الدول اعضاء هيئة الزراعة والأغذية ومنظمة الصحة العالمية ، كما ان ممثلى الهيئات الدولية التى لها علاقة بالإنتاج والتصدير يمكنهم حضور الاجتماعات كمراقبين . ويوجد مقر هذه اللجنة فى ضيافة الحكومة الهولندية ، ولقد تم عقد ١٩ اجتماعا منذ عام ١٩٦٦ .

١٤ - وثيقة أو دليل الحدود القصوى لمخلفات المبيدات : Codex MRL

يعنى اقصى تركيز من مخلفات المبيد بعد استخدام هذا المبيد تبعا لنظام الزراعة الجيدة (GAP) ، ويحدد هذا المستوى بواسطة هيئة الغذاء وهو تركيز مقبول وجوده فى الأغذية والمواد الزراعية وعلائق الحيوانات ويمر عنه بالمللحرام لكل كيلوجرام مادة غذائية .

١٥ - اللجنة المشتركة لمنظمتى الفاو والصحة العالمية لدراسة وضع المخلفات JMPR :

الخاصة بالمبيدات وهى تضم خبراء المخلفات فى الغذاء والبيئة من قبل الـ FAO ومجموعة خبراء مخلفات المبيدات فى الصحة العالمية WHO . ويعقد هذا الاجتماع المشترك سنويا حيث يقوم خبراء الفاو باستعراض أنماط استخدام المبيدات وتقديم جميع البيانات الخاصة بكميائات وتركيب مبيدات الآفات وطرق تحليل مخلفات المبيدات وكذلك تحديد الحدود القصوى للمخلفات بعد التطبيق السليم للمبيدات . أما خبراء الصحة العالمية بضطلعون بمسؤولية استعراض البيانات الخاصة بالتوكسيكولوجى واية بيانات عن الحد اليومي المقبول تناوله (ADI) .

١٦ - دور لجنة الدستور الخاصة بمخلفات المبيدات : Codex committee

هى هيئة حكومية تقوم باسداء النصح لهيئة دستور الأغذية فى كل ما يتعلق بمخلفات المبيدات . ومن أولويات عملها وضع الحدود القصوى للمخلفات (MRL's) بما يحقق حماية صحة المستهلك على المستوى التجارى الدولى . وتؤخذ اعتبارات الصحة العامة فى الحسبان الا تزيد قيم الحدود القصوى للمخلفات عن تلك الناتجة من التطبيق تحت ظروف الزراعة الجيدة (GAP)

ومن وقت آخر يبرز تساؤل فى لجنة الدستور CCPR عما اذا كان قبول الحدود القصوى للمخلفات سيخلق موقفا يؤدى الى زيادة حدود التناول اليومي للمخلفات (ADI) . ولا يمكن الاجابة على هذا التساؤل دون الاعتماد على دراسات التغذية ، وفى كثير من الحالات التى لا يدوم فيها استهلاك نوع الغذاء تحت الدراسة طويلا يصعب من الضرورى التنبؤ بمدى تناول مخلفات المبيد . وبناء على ذلك تم التوصية فى الجلسة الثامنة عشرة من عام ١٩٨٦ من قبل ال CCPR على القواعد العريضة التى وضعت لمساعدة السلطات القومية فى التنبؤ بمستوى التناول اليومي للمخلفات بعد قبول الحدود القصوى كما وضعتها لجنة الدستور . ولقد طلبت الـ CCPR من منظمى الفاو والصحة العالمية بعقد لقاء خاص من خبرائهما لتجهيز مسودة هذه القواعد ووضع الاقتراحات الخاصة بالتقنيات الخاصة بتحديد درجة الأمان الخاصة بالحدود القصوى للمخلفات على المستوى القومى مقارنة بالمستوى الذى حددته اللجنة . وفى الجلسة التاسعة عشرة للـ CCPR عام ١٩٨٧ تمت التوصية بضرورة وضع القواعد باسرع ما يمكن مع الاهتمام بملاحظات وتعليمات ممثلى CCPR .

ثالثا : قائمة ومهام ومستويات العاملين بعمل تحليل مخلفات المبيدات :

قصدت من تناول هذه الجزئية ان اضع النقط على الحروف بعدما تاهت المسئولية وتداخلت الاختصاصات واصبح كل من يعمل فى المعامل المركزية التابعة لوزارة الزراعة أو الصحة يدعى احقيقته فى ان يكون مديرا لعمل تحليل المخلفات متناسين ما هو معروف ومتفق عليه فى الدول المتقدمة والمعامل ذات السمعة الطيبة .

١ - مدير المعمل ... يجب ويفضل بل واتفق على ان يكون حاصلا على درجة علمية عالية فى الكيمياء « دكتوراه » وهذا ليس تفضيلا او تعتنا فى الاختيار لأن هذا المعمل يضطلع بمهام الكشف عن المبيدات وهى مواد كيميائية أولا واخيرا ، واضيف الى الدرجة العلمية ان تكون لديه خبرة ودراية بطبيعة هذا العمل الهام والخطير . لست هنا فى موضع الحديث عن ضرورة تحلى المدير بالامانة العلمية والاخلاص الحميد وعلية ان يتقى الله ويرعى مصلحة الوطن ، واقترح ان يكون هناك قسم خاص اسوة بما يحدث مع القضاة والاطباء ورجال الشرطة والقوات المسلحة لأن الأمانة التى يتحمل مسئوليتها لا تقل عن تلك التى يحملها هؤلاء . كما سبق التنويه ان التحليل فن وذوق ويمكن لأى مجتهد ذو خبرة واسعة ان يضطلع بهذه المهام حتى لو لم يكن كيميائيا ولكن الافضل ان يكون كذلك . وعلى المدير ان يتلقى تدريبات فى فن الادارة وكيفية التعامل مع الجهات التى يعينها امر المخلفات محليا ودوليا وان يكون قادرا على فتح قنوات علمية وفنية مع الجامعات والهيئات المعنية بقضية المخلفات كما تكون لديه شجاعة كافية لمجابهة اية مواقف غير عادية ولا اريد نسيان اتقائه للغة اجنبية أو عدة لغات وعلية ان يختار معاونيه من بين الاكفاء والناصر الصالحة دون اية أهواء شخصية . ويفضل ان يكون قد مارس عمليات التحليل بانواعها المختلفة وعلى دراية تامة بالاجهزة وذو كفاءة فى استقراء النتائج وكتابة التقارير ... الخ والتعامل مع

الحاسبات العلمية . واضيف الى ذلك ضرورة اشراكه فى جميع اللجان المعنية بالتسجيل والتوصيات والرقابة على المبيدات وغيرها من الكيمائيات الزراعية وغيرها .

من المؤسف الاشارة الى اننى عانيت كثيرا من التعامل مع احد مديرى معامل التحليل الخاصة بمختلف انواع الكيمائيات فى احد الجامعات بسبب جهله التام بالمهام الملقاه على عاتقه خاصة عدم معرفته بالاجهزة الموجودة فى معمله وعدم قدرته على استقراء النتائج وكتابة التقارير وكل ما كان يعنيه هو المحافظة على تواجده فى العمل والحصول على المكافآت .. وعلى النقيض تماما كنت قريبا من احد المديرين الذى كان يستأثر بكل شئ لنفسه ويحجب المعرفة والخبرة عن كل ما يحيطون به .. فلا هذا يصلح ولا ذاك أيضا ...

٢ - مسئول عمليات الاستخلاص Extraction .. مخلفات المبيد او مخلوط المبيدات من الوسط الموجودة فيه يجب ويفضل ان يكون حاصلا على بكالوريوس الكيمياء لأن الاستخلاص يعتبر العامل المحدد بل عنق الزجاجة فى نجاح عمليات التقدير ، يلى أو على نفس مستوى أهمية أخذ وتجهيز العينات ، فاذا كان الاساس خاطئا انهيار البنيان وحدثت الكوارث من جراء خطر الكشف عن كمية ونوعية المخلفات . أؤكد أن الكيمائى هو اقدر الناس على التعامل مع المبيدات العضوية لمعرفته بخواصها وقطبيتها وكفاءتها فى الاستخلاص ويستطيع ان يختار المذيب الأكفأ واسلوب الاستخلاص الجيد ، كما انه ذو مقدرة لعمل تعديلات وتحويرات فى طريقة الاستخلاص كما أنه يقدر خطورة التعامل مع المبيدات ومدى الاضرار التى قد تحدثها للعائم بالعملية واسلوب حفظ المستخلصات وتخفيفها ووزنها والتعامل معها ... فقد هالنى مرة عندما فتحت الثلاجة الكبيرة فى احد المعامل ووجدت بها عشرات الزجاجات المحتوية على مستخلصات فى احد المبيدات العضوية مخزنة منذ شهور والباحث نفسه لأنه غير كيمائى لا يعرف امكانية الانهيار للمادة الفعالة فى وجود المذيب العضوى وهى ظاهرة تعرف بالـ Slovolysis . كم من طريقة تحليل جيدة فشلت بسبب الجهل باساسيات الاستخلاص . هل يتصور ان نجد باحث فى رسالة علمية على قناعة بمعدل استرجاع للمبيد من ٦٠ - ٧٠ ٪ مع الخبرات والتكنولوجيات الحديثة فى هذا المجال . واذا كان مسئول عمليات الاستخلاص غير كيمائى فلا يوجد امامه سوى اتباع خطوات الاستخلاص كما هى موجودة فى طريقة التحليل دون اجتهاد ... وهذا غير مستحب حيث المعرفة مطلوبة واسباسية .

٣ - مسئول تنظيف العينات Clean up .. ويكون حاصلا على بكالوريوس كيمياء وطبيعة عمل ومسؤوليات هذا الرجل على درجة فى غاية الأهمية بنفس القدر ان لم يكن أكثر من مسئول الاستخلاص وان كنت افضل شخصا ان يكون هناك شخص واحد لعمليات الاستخلاص والتنقية . ان عدم الدقة والاهمال فى التنظيف يعتبر مسئولا بشكل كامل عن انخفاض معدلات الاسترجاع وقد يفقد المبيد تماما فى حالة تواجده بكميات ضئيلة خلال عمليات التنظيف . فى هذه الجزئية الاجتهاد العلمى المطلوب بسبب غلو ثمن المواد التى تستخدم فى تنظيف

العينات . فى الوقت الحالى توجد طرق متعددة لتنظيف المستخلصات وكلها تعتمد على الفصل الجزيئى الطبيعى او الكيمىائى للشوائب الموجودة مع المادة الفعالة للمبيد ... ان احتمالات حدوث تداخلات بين المبيد والشوائب ومواد التنظيف قائمة ، لا معنى لاستخدام مواد تؤكسد المبيد وتحوله الى صورة اخرى غير داخلية فى برنامج الكشف عن مخلفات المبيد مما يعطى بيانات مضللة عن وضع الخلفات . فى الوقت الراهن ظهرت طرق للكشف عن المبيدات لا تتطلب اجراء عمليات التنظيف وهذه تكنولوجيا جيدة يجب الإلمام بمفهومها واساسياتها وكيفية احداث التأثير قبل العمل بها حتى لا تكون سببا فى فشل عملية الكشف عن الخلفات . من المعروف ان هناك أوساط لا تتطلب عمليات تنظيف مثل الماء وان كنت افضل اجراء التنظيف فيها .. وسيرد فيما بعد وصف تفصيلى لمحددات هذه العمليات وسيتأكد القارئ بنفسه من اهمية أن يكون مسئول هذا العمل كيميائى على درجة عالية من الخبرة والمهارة .

٤ - مسئول معمل التقييم الحيوى Bioassay .. يجب ان يكون حاصلا على بكالوريوس حشرات من كليات الزراعة او العلوم واضيف الى ذلك مسئول من الطب البيطرى أو زراعة (انتاج حيوانى) للتقديرات الانزيمية . ان اهمية دقة التقييم الحيوى فى الكشف عن مخلفات المبيدات ليست محل شك بل واجبة الاشارة بها بشرط فهم محدداتها والأسس التى تستند عليها . لابد ان تكون هناك مزارع للحشرات والحيوانات وغيرها فى هذا المعمل مرية تحت ظروف قياسية بعيدا عن اى مصدر للتلوث حتى تكون استجاباتها للمبيدات وغيرها من الكيمىائيات تحت الاختبار ممثلة للواقع . ان عدم الدقة فى اختيار حيوانات الاختبار سيؤدى حتما الى فشل التقدير وانتمى أن يأخذ اليوم الذى يكون فى مصر معامل لتربية الكائنات الحية المستخدمة فى الكشف عن المبيدات وغيرها من الملوثات البيئية نمد الباحثين فى جميع الجهات بنفس السلالات . مسئولى هذا المعمل لا بد ان تكون عندهم دراية كاملة بطرق معاملة الكائنات الحية للتجريب بالمبيدات ومن ثم يجب ان توفر فى هذه المعامل جميع امكانيات الاختبارات الحيوية . وعليهم ان يكونوا على المام تام بمحددات التقييم الحيوى وطرق استقراء النتائج وتمثيلها بيانيا وتحليلها احصائيا وايجاد معايير العلاقة بين التركيز والاستجابة . كم من اخطاء حدثت عند اجراء التقييم الحيوى وتقدير مخلفات المبيدات وكانت سببا فى فشل العمل . واذكر فى هذا المجال ما اجرى فى احدى كليات الزراعة من محاولات الكشف عن مخلفات المبيدات فى التربة حيث قام الباحث بعمليات استخلاص كثيرة ثم قام بتعرض المستخلص ليرقات دودة ورق القطن وهى فى هذا المجال غير مناسبة للاختبار وكان عليه ان يختار كائن حى اكثر حساسية وملائمة للاختبار الحيوى ... كم من مرة شاهدت حشرات مصابة بالفيروس تستخدم فى تجارب التقييم الحيوى لتحديد كفاءة المبيدات الحشرية على دودة ورق القطن . على مسئول معمل التقييم الحيوى ان يدرك بوعى وفهم كاملين اهمية السلالات الحساسة القياسية فى معمله حتى تكون مرجعا فى دراسات المقاومة على وجه الخصوص ان عدم توفر هذه السلالات فى معاملنا القت بظلال من الشك على النتائج والبحوث التى نشرت نتائجها عن تطور ظاهرة المقاومة للمبيدات فى مصر خاصة المبيدات الحديثة كالبيرثرويدات على سبيل المثال ...

٥ - مسئول العينات في معمل تحليل المخلفات .. حيث رأيت من واقع عملي في هذا المجال ان اضيف هذا المسئول لأهمية هذا العامل في تحديد نجاح او فشل العملية كلها . وأنصوّر ان يكون هذا الرجل مسئولاً عن تسلم العينات وتدوينها وتوثيقها في الدفاتر الرسمية على النماذج الخاصة بذلك والإحتفاظ بها تحت الظروف المناسبة بعيداً عن أى مصادر تلوث او مسببات الانهيار كالحرارة أو الرطوبة العالية والضوء وغيرها . وعليه ان يكون على دراية بعوامل التحلل المائى ودور المذيبات العضوية فى هذا الخصوص وكذلك اسس تقسيم وتجزئة العينات وكيفية تجهيز العينة المخلطة . يجب ان يقوم هذا المسئول ومعاونوه من الفنيين باحضار العينات المطلوب الكشف عن مخلفات المبيدات فيها (حبوب - مواد غذائية ... الخ) بأنفسهم ونفس الشيء بالنسبة للعينات من شحنات ورسائل التصدير . على هذا المسئول ان يتقن الله فى عمله ويضع نصب عينيه خطورة المهام الموكلة اليه وعليه ان يقسم يمين الولاء للمهنة وأخلاقياتها حيث ان العامل المحدد لنظام الرقابة على الواردات والصادرات من حيث مخلفات المبيدات ولو ادى عمله بأمانة لن تواجه مشكلة رفض اية رسائل تصديرية لأية سلعة بسبب احتوائها على مخلفات مبيدات اعلى من الحدود المسموح بتواجدها تبعاً لمعايير كل دولة . كم شاهدت وسمعت ان بعض من هؤلاء المسئولين يتسلم عينات جهزت خصيصاً للتحليل والكشف عن المخلفات اما عن جهل او عن عمد وهى جريمة بجميع المقاييس حيث يوفر على نفسه عناء ومجهود اخذ عينات ممثلة للواقع ويكتفى بما جهز له دون اكثرات بخطورة هذا السلوك الا اخلاقى .

٦ - مسئول معمل التحليل ... حتى لا يحدث خلط بين هذا المسئول وزميله مدير المعمل فاني اتصور ان مسئول معمل التحليل هو القائم بعمليات التحليل فيما بعد الاستخلاص واخذ العينات وان كان من الضروري ان يكون ملماً بجميع خطوات ومتطلبات التحليل ويفضل ان يكون حاصلاً على بكالوريوس الكيمياء واقترح ان توكل اليه عمليات تخليص العينات من الشوائب الموجودة بها وتنظيفها وتركيزها للحجوم المناسبة لعمليات التقدير النهائى ، وفى العديد من الحالات يكون عدم التنظيف الجيد سبباً مباشراً ورتسياً فى فشل عملية التحليل كلها . وفى تصورى ان هذا المسئول يجب ان يكون تلقى تدريبات وافية ومتخصصة بعد دراسته الجامعية فى كلية العلوم او الزراعة او الصيدلة أو الطب ... الخ . سواء فى داخل البلاد وفى المعامل المتطورة بالخارج كما يجب ان تتاح له الفرصة بصفة دورية منتظمة من خلال الدورات و الندوات لتحديد مفهوم وترسيخ اهمية التحليل فى وجدانه . لا بد ان يتصف هذا المسئول بالحيوية والأمانة وحسن الخلق حيث لا بد ان يتعاون مع زملائه مسئولى العينات والاستخلاص كما يكون لديه القدرة على وضع واختيار الطريقة المناسبة للتحليل ومراقبة التنفيذ دون خلق المشاكل مع زملائه .. ولقد ألتنى ما شاهدته بنفسى فى احد مصانع تجهيز المبيدات فى مصر من خلافات بين مدير معمل التحليل ومسئولى المعمل العاملون تحت امرته مما يعيق حسن سير العمل والسبب الرئيسى لذلك يتمثل فى وقوف رئيس العمل فى جانب مسئولى التحليل ضارباً بمسؤوليات ومهام مدير المعمل عرض الحائط . لذلك اوصى بضرورة تنحية كل الجوانب الشخصية جانباً حفاظاً على تحقيق هدف التحليل . لمسؤل التحليل مهمة استخدام اجهزة القياس الدقيقة وله ان يبحث احياناً فى صيانتها اذا كان على

دراية وتلقى تدريبات من الشركات المنتجة لها اما الاصلاح العشوائى بدون معرفة من اخطر الأمور ، ومن الأفضل للجميع ان يتم الاتصال بالشركة المعنية بالصيانة والاصلاح . على هذا المسؤل ان يجرى خطوات التحليل بنفسه حتى وإن كان فى معمله مساعدون حتى لا يفقد حساسيته فى العمل وتتوارى الخبرة بمرور الوقت . واستطيع التأكيد بان تراكم وتجدد الخبرات والمعرفة لدى مسؤل التحليل يجعله قادرا على التنبؤ المسبق بنتيجة التحليل بمجرد البدء فى الخطوات وقبل قياس العينات .

لا تقاس مهارة القائم بالتحليل بعدد الخطوات التى ينفذها فى التحليل ولكن بدقة كل مرحلة والحصول على نفس النتائج مع كل مرحلة فى حالة التكرار والتأكد reproducibility وفى العادة تحدد كفاءة معمل التحليل بصفة شاملة سواء على المستوى المحلى أو الاقليمى أو العالمى بخبرة ودراية العاملون فى هذا المعمل . على هذا المسؤل الا يطلب أو يحاول الحصول على بيانات العينات محل التحليل أكثر مما هو متاح له من قبل مدير المعمل حتى لا يتكون عنده فكر معين أو يتميز لجانب معين فى التحليل خاصة فى عينات المراقبة واختبارات الجودة . وعلى هذا المسؤل ان يكون قادرا على تجهيز وتحضير الجواهر الكاشفة الخاصة بالتحليل واختبار انسب واسهل الطرق للتجهيز والتداول والحفظ .

٧ - مسؤل معمل الاجهزة .. قديما كان ذلك يتضمن مسؤل العمل على الاجهزة الاسبكتروفوتومترية بسبب توفرها فى ذلك الوقت ولم يكن معروفا وقتها اجهزة الكروماتوجرافى الغازى وغيرها . فى تصورى ان مسؤل الاجهزة فى غاية الاهمية ويجب تواجده ليس فى كل معمل ولكن فى كل معهد وهذا اضعف الايمان . من المؤسف القول انه عند شراء اجهزة متقدمة بمعامل تحليل المبيدات فى بلادنا لا يوجد متخصص قادر على كتابة المواصفات الخاصة بهذه الاجهزة ومن الشائع ان نجد فى معاملنا العديد من هذه الاجهزة التى لا تعمل بسبب عدم أهميتها أو لنقص بعض القطع الاساسية فيها . لذلك يجب ان ينشأ فى كل هيئة (جامعة - معهد علمى - مصنع ... الخ) مجموعة أو قسم يتولى مهمة توصيف الاجهزة وشراؤها وصيانتها واختيار الانواع التى تصلح لكل معمل . لا ينقص ذلك من وضع مديرى ومسؤولى المعامل ولكنه يضيف اليهم خبرات جديدة ويجهزهم الوقوع فى المشاكل وهى خطيرة . ويحضرنى فى هذا المقام الأعطال الرهيبة التى تحدث فى اجهزة الكروماتوجرافى الغازى فى معظم المعامل نتيجة جهل بعض العاملين فى المعامل عن خطورة عدم الالتزام بطرق التحليل القياسية .. وعلى سبيل المثال قياس مبيد معين على الجهاز مع الكشف الصائد للالكترونات وهو غير ملائم لهذا المبيد مما يؤدى الى تلف الكشف Detector والذى يقدر ثمنه بعشر آلاف جنيه مصرى على الأقل . ومن الأمور التى تبدو تافهة ولكنها تحدث خسارة كبيرة فى الاجهزة عدم تزويد المعامل بمثبتات التيار الكهربى خاصة فى المناطق التى يتذبذب فيها التيار بين الارتفاع والاختفاض . ومن المؤسف ان كثير من العاملين فى معامل التحليل يفتنون هذا الوضع باستخدامهم للمواد القياسية الداخلىة Internal standards وهذا وإن كان صحيحا لحد ما الا ان هذه المواد لا تتوفر مع جميع المبيدات .

٨ - المسغول عن تنظيف الادوات وحجرة العينات .. ان مسغولية هؤلاء العاملين خطيرة ولا تقل عن مسغوليات القائم بالاستخلاص والتحليل وتجهيز العينات . ان معامل التحليل تضطلع بمهمة الكشف عن آثار المبيدات فكيف يتصور استخدام زجاجيات غير نظيفة أو ملوثة بمواد قد تتداخل مع المبيد المطلوب الكشف عنه او قد يحدث له تحلل او انهيار أو تحوله الى صورة اخرى يؤدي الكشف عنها الى استنتاجات مضللة وأحكام خطيرة ومشاكل لا حصر لها . هناك طرق معينة لتنظيف الزجاجيات تستخدم فيها محاليل معينة والمشاهد والشائع استخدام المنظفات الصناعية وهي مواد قلوية التأثير مع العلم بان معظم المبيدات تنهار في الوسط القلوى ، ولا ننادى بعدم استخدام هذه المواد ولكن نؤكد على ضرورة الشطف الجيد بالماء المقطرة والاسيتون وبعد ذلك يتم التجفيف ، ويمكن زيادة في الحيلة والتأكيد اجراء اختبار سريع للكشف عن اية شوائب . هل نتصور قيام مسغول التحليل باجراء الاستخلاص في زجاجيات مبلولة بالماء واطافة مذيبيات لا تمتزج بها مثل الكلوروفورم .. النتيجة ستكون نقص في كفاءة الاستخلاص ومعدل الاسترجاع وكفاءة الطريقة بوجه عام . تنظيف حجرة العينات يجب ان يقوم بها عمال ملتزمون بنفوذون التعليمات الموكلة بهم ولا يجب ان يكون حرصهم الزائد في تنظيف المكان سببا في حدوث آثار جانبية على العاملين في المعامل واحتمال تلوث العينات .

رابعا : قائمة بالأجهزة التي يجب توفرها في معمل تحليل وتقدير مخلفات المبيدات :

سنركز في هذا الجزء على الاجهزة التي تستخدم في طرق التحليل للكشف عن المخلفات المتعددة multi residue ونستكمل القائمة كلما امكن ذلك :

- ١ - الخلاطات فائقة السرعة والعادية والمقاومة للمذيبات .
- ٢ - اجهزة طرد مركزي ذات سرعات مختلفة تقاوم الانفجار .
- ٣ - انابيب وقوابل لأجهزة الطرد المركزي .
- ٤ - الهراسات - القطاعات ذات كفاءات متنوعة .
- ٥ - المخابير المدرجة ذات سمات مختلفة ١٠٠ - ٢٠٠ - ٥٠٠ مليلتر وبعضها خاصة سعة ١٠٠ مليلتر ذات أنظمة محكمة .
- ٦ - انابيب خاصة لفصل المذيبات في الاستخلاص بالفصل الجزئي (التفصيل موجود في Pesticide analytical manual, vol I) .
- ٧ - دوارق معيارية ١٢٥ - ٣٠٠ - ٥٠٠ مليلتر .
- ٨ - ورق ترشيح ١١ ، ١٥ سم .
- ٩ - دوارق للترشيح بالتفريغ ٥٠٠ مليلتر .
- ١٠ - اقماح زجاجية ذات سمات مختلفة .
- ١١ - طواحين لتقطيع العينات لجسيمات ٢٠٠ ثقب .

- ١٢ - اجهزة الهرس موديل بوليكترون .
- ١٣ - اغطية للدوارق المخروطية وغيرها من الزجاج .
- ١٤ - زجاجيات لون بنى بأغطية محكمة لتخزين الفلوروسيل .
- ١٥ - اعمدة زجاجية للكروماتوجرافى ٢٢ ملليمتر \times ٣٠٠ ملليمتر باغطية أو بدون مزودة بقرص مسامى أو بدون .
- ١٦ - المكثفات ومنها مكثفات الهواء المصنوعة من الزجاج وكذلك مكثفات الماء .
- ١٧ - اجهزة الكروماتوجرافى بالجيل المنفذ وتتضمن وحدة اخذ العينات ومضخة والاعمدة وحقن سعة ١٠ مليلتر .
- ١٨ - منظم لانسياب المنيات ومحاقن وساعة إيقاف وصوف زجاجى ودوارق معيارية .
- ١٩ - اجهزة لتبخير المنيات سواء ذات الغليان الواطية أو المرتفعة ويفضل اجهزة المبخرات الدوارة .
- ٢٠ - مقلمات مغناطيسية واعمدة تكتيف عاكسة .
- ٢١ - اجهزة الكروماتوجرافى الغازى بالكاشفات المختلفة مثل صائد الالكترونات والتناسب باللهب وغيرها .
- ٢٢ - اعمدة الكروماتوجرافى الغازى تبعا للأجهزة الموجودة فى المعمل ويفضل ان تكون من الزجاج .
- ٢٣ - اسطوانات الغازات عالية النقاوة من الايدروجين والنتروجين والاكسجين والهيليوم والهواء ومخلوط الارجون / ميثان .
- ٢٤ - اجهزة لتداول المواد القياسية وزجاجيات لتخزين العينات وحفظ الجواهر الكشافة .
- ٢٥ - وحدات القياس اليدوية والالية والكهربية .
- ٢٦ - وحدة كاملة للكروماتوجرافى بالالواح الزجاجية Thin layer chromatography من المحقن والتلك والمحفقات والمحقنات والالواح الزجاجية ومصادر الاشعة فوق البنفسجية .
- ٢٧ - وحدات الاستخلاص خاصة سوكسليت وغيرها .
- ٢٨ - حمامات ماء ذات مقاسات مختلفة .
- ٢٩ - اجهزة قياس الالوان colorimeter بمواصفات خاصة بقياس الالوان فى الحدود المرئية وغير المرئية .
- ٣٠ - اجهزة قياس الحموضة PH - meter
- ٣١ - اجهزة الاسبيكتروفوتومترية .

- ٣٢ - اجهزة القياس المانومتري .
- ٣٣ - جهاز الكشف المناعي Immuno assay للمخلفات و الالكتروفوريسيز Electro-phoresis .
- ٣٤ - اجهزة التقلب الاقوى والرأسى لاستخلاص العينات .
- ٣٥ - اجهزة خلط المواد الصلبة .
- ٣٦ - حوامل للأقماع والسحاحات وانابيب الاختبار .
- ٣٧ - حوامل للاطباق البترية .
- ٣٨ - وحدات للتعميق (الاتوكلاف) .
- ٣٩ - جهاز فارنورج لقياس معدلات التنفس وغير ذلك
- خامسا : قائمة بالجواهر الكاشفة فى معمل تحليل مخلفات المبيدات :

١ - المذيبات العضوية والجواهر الكاشفة الاخرى يجب ان تكون على درجة عالية من النقاوة وخاليه من اية شوائب تتداخل مع طرق الكشف عن مخلفات المبيدات . واذا كانت هناك ضرورة لاجراء عمليات تقطير للمذيبات يجب ان تجرى فى وحدات زجاجية .

٢ - الاصطلاح H_2O يعنى الماء المقطر وهناك الماء متناهى النقاوة وهو يجهر بنظام تنقية معين .

٣ - يجب توفر الكلورفورم ، كلوروفورم ترائى اوكسيد ، قطن ماص ، داي كلورو داي ميثيل ايشان ، خلات الايثايل ايثير ، الفلوروسيل ٦٠ - ١٠٠ مش ، حامض خليك ثلجى ، صوف زجاجى ، هكسان ، حمض ايدروكلوريك ، ايزوبروبانول ، اكسيد مغنسيوم ، ميثانول ، احمر الميثايل ، ميثيلين كلوريد ، ينزوليم ايثير ، حمض فوسفو تنجستيك ، ايدروكسيد بوتاسيوم ، ايوديد بوتاسيوم ، رمل مغسول نقى ، حمض سليسيك ، بيكرونات صوديوم ، كلوريد صوديوم ، ايدروكسيد الصوديوم او البوتاسيوم على صورة كريات ، اكسالات الصوديوم او البوتاسيوم ، كبريتات صوديوم ، حمض كبريتيك ، تولوين ، ٢ و ٢ و ٤ ترائى ميثيل بنتين (ايزو اوكتين) ، ٢ و ٢ و ٤ - ترائى ميثيل بنتين (ايزو اوكتان) عادى .

* بالنسبة للمواد الغذائية والأعلاف .. يجب اجراء اختبارات للتأكد من خلو المذيبات والجواهر الكاشفة من المواد التى قد تتداخل مع التقدير الكروماتوجرافى الغازى وكذلك المواد التى تسبب انهيار المبيدات وكذلك التأكد من نقاوة الفلوروسيل ومعايرة عمود الفلوروسيل ..

يجب توفر ماصات سعة ٢٥ مليلتر مدرجة - دوارق معايرة - دوارق ٥٠٠ مليلتر - كحول الايثايل - هكسان حمض لوريك - دليل الفينولوفثالين - ايدروكسيد صوديوم .

يجب توفر المواد المألوفة لأعمدة الكروماتوجرافي الغازي مثل :- Sp 101 - Ov 200 - DEGS - Ov 17 - Sp 2250 - Dc 710 - Sp 210 - Qf 1 - وهذه تمثل الوسط المثالي ...

أما المواد الصلبة تشمل Chromosorb WHP 80/100 mesh - Chromosorb WAW 80/100 mesh - Anakrom Q 90/100 mesh - Chromosorb 750 80/100 mesh - Gaschrom Q 80/100 mesh - Supercopoot 80/100 mesh.

بالنسبة للغازات يجب مراعاة ان بعض اجهزة الكروماتوجرافي الغازي تتطلب غازات على درجة عالية من النقاوة ويجب ان يتوفر في معمل تقدير مخلفات المبيدات اسطوانات الارجون / ميثان ، الهيليوم - الايدروجين - الهواء - النتروجين - الاكسجين .

* بالنسبة للكروماتوجرافي على الألواح الزجاجية يجب ان يتوفر في معمل التحليل مذيبيات الاسيتون - وحامض الخليك العادي والثلجي والاسيتونتريل والكحول الايثيلي - اكسيد الالومنيوم - الألواح الزجاجية المغطاة باكسيد الالومنيوم - البنزين - الكلوروفورم - حامض الستريك - السيكلو هكسان - ن و ن - داي ميثيل فوراميد - خلاص الايثيل - الايثيل اثير - ن هيتان - ن - هكسان - بيروكسيد الايدروجين ٣٠٪ - ميثيل سيكلوهكسان - ميثيلين كلوريد - حامض تريك - ٤ (بارانترينزيل) بيريدين - بتروليم اثير - ٢ فينوكس ايثانول - سليكا جيل - الواح زجاجية مغطاة بالسليكا جيل - سليكار - نترات فضة - مواد قياسية .

* المواد القياسية الواجب توفرها في معمل تقدير مخلفات المبيدات .. تؤكد في هذا المقام ان نجاح ودقة التحليل يتوقف على مدى نقاوة المواد القياسية ، وعلى البحوث او القائم بالكشف على المخلفات ان يتأكد من سلامة وأمانة مصدر العينات القياسية ونحن دائما ما نلفت نظر البحوث الى هذه النقطة الخطيرة وعليهم ان يتأكدوا من العينة باجراء اختبار سريع منعاً لأية ملاسبات او تشكيك في نتائج التحليل ، ونفس القدر من الاهمية لتداول وتخزين المواد القياسية . ولضمان دقة العملية يجب ان يتوفر في المعمل ميزان حساس في مدى ± 0.05 ، مللمجم وفرنيزر مناسب وزجاجيات لتخزين المواد القياسية وهي ذات اغطية من التيفلون ، ويمكن وضع العينات في مجففات لحفظها وتوفير ماصات دقيقة وزجاجات عينات . لتجهيز المحاليل القياسية تفضل المذيبيات بالترتيب التالي : ايزوأوكتان ، هكسان ، اسيتون ، ايزوبروبانول ، تولوين ، ان الاختيار الأمثل للمذيب المناسب لأذابة المادة القياسية في غاية الاهمية حيث يجب اختيار المذيب ذو القدرة العالية على اذابته ولا يحدث له انهيار .

* المواد القياسية ذات النقاوة اعلى من ٩٩٪ توزن مباشرة تبعاً للحجم المطلوب ، أما تلك التي تقل عن ٩٩٪ توزن وزنة معينة ويستخدم عامل التصحيح لحساب التركيز المناسب ، أما في حالة المواد القليلة النقاوة أو الغير معروف نقاوتها تستخدم اذا لم يكن هناك بديل وتقاس النتائج بالمقارنة بأية نتائج أخرى موثوق بها .

* للحصول على المواد القياسية (مبيدات - كيميائيات صناعية) يتصل بوكالة حماية البيئة الأمريكية .
Pesticides and industrial chemicals.

Repsolatory (MD-8)

Envirnomenal Research Center

U.S. Environmental Protection Agency

Research Triangle Park, NC 27711 USA

للحصول على المواد القياسية للكيميائيات الصناعية :

chemistry, contaminants Division of

HFF - 426, food and drug administration.

200 C street SW

Washington , DC 20204.

بعض الشركات تبيع الاجهزة والمواد القياسية كما ان بعض الشركات المنتجة للمبيدات ترحب احيانا بتزويد البحوث والمعامل بالمواد القياسية .

* تخزين العينات القياسية للمبيدات وغيرها من الكيمائيات فى غاية الاهمية فالتخزين المناسب مطلوب لتجنب حدوث اية تفاعلات مثل الاكسدة أو التحلل المائى او تكوين المشابهات . كما يجب الا يتسبب التخزين فى حدوث تلوث خارجى للعينات . ان ظروف التخزين تتوقف على الصفات الكيميائية والطبيعية للمركب ، وبراعى التخزين المناسب خاصة مع المركبات النشطة أو المتطايرة أو الغير ثابتة . والتخزين الطويل يجب ان توضع العينات فى زجاجيات محكمة الغلق فى مجففات فى الثلاجة فائقة التبريد اما المواد القياسية ذات الثبات العالى تخزن فى الثلاجة العادية اذا لزم الامر .

* تتوقف طرق تداول ووزن العينات القياسية على السمية ودرجة التعرض خلال التداول فالمواد عالية السمية أو عالية التطاير يجب ان تعامل بحذر مع الاحتياطات المناسبة ، وليكن معلوما ان استخدام المذيبات العضوية يزيد من خطورة المواد القياسية من خلال الامتصاص عن طريق الجلد . يجب ارتداء الملابس المضادة للمذيبات والقفازات الواقية ويجب العمل فى اماكن مكيفة .

* ان استخدام محاليل قياسية غير دقيقة يؤدى الى الحصول على بيانات غير دقيقة حتى لو استخدم القائم بالتحليل طرقا واجهزة دقيقة ومتقدمة ، والخطأ فى هذا المجال يعتبر من اوليات الأخطاء بل والوحيدة عند الكشف عن المخلفات البسيطة . * ان استخدام محاليل قياسية غير دقيقة يؤدى الى الحصول على بيانات غير دقيقة حتى لو استخدم القائم بالتحليل طرقا واجهزة دقيقة ومتقدمة ، والخطأ فى هذا المجال يعتبر من أوليات الاخطاء بل والوحيدة عن الكشف عن المخلفات البسيطة . الدقة فى المحاليل القياسية تتوقف على دقة الوزن واختيار المذيب المناسب والثبات

الكيميائي والظروف المناسبة للتخزين ودقة المعلومات عن تجهيز المحاليل القياسية ... وتستخدم هنا الاصطلاحات التالية :

* المحاليل القياسية الاصلية Standard stock solutions يعنى المحلول الاصلى الذى سيجوز منه المحاليل المخففة الاخرى للتحليل .

* المحاليل القياسية العاملة Standard working solutions تجهز من المحلول القياسى الاصلى ويستخدم نفس المذيب فى التخفيف .

* يجب على القائم بالتحليل ان يكون على دراية تامة وذو خبرة كافية فى اسلوب وطرق وزن العينات القياسية اخذا فى الاعتبار مواصفات المركب الطبيعية والكيميائية . ولقد صادفت العديد من الزملاء غير قادرين على وزن السوائل القياسية وبعضهم تعرض لاختطار من جراء استنشاق المواد الفعالة او امتصاصها خلال الجلد . وعلى القائم بالتحليل ان يعرف كيفية تجهيز المحاليل القياسية الاصلية والعمالة والاسلوب الامن لتداولها وتخزينها وتجديدها كل ٦ أشهر على اسوأ الظروف ، كما يجب ان يقوم بتسجيل جميع خطوات تحضير المحاليل القياسية فى النماذج الخاصة المتعارف عليها بين معامل التحليل المختلفة ، وعليه ان يتبع اصول الترقيم وكتابة البيانات على عينات المحاليل القياسية ، وكم من مرات عديدة ضاعت العلامات والبيانات من جراء التبريد او عدم الثبات وتسببت فى كوارث .

* التحاليل المنظمة Regulatory Analysis :

* العينات التى يجرى عليها التحليل من خلال البرنامج المنتظم والدورى للكشف عن مخلفات المبيدات يجب ان تؤخذ طبقا للبروتوكول الخاص لهيئة الاغذية والادوية الامريكية . يجب ان يكون الجزء الذى سيؤخذ للتحليل مثالا للعينات الاصلية ويجب ان يتم تداوله بحرص شديد حتى تتجنب فقد المخلفات بالتطاير وحتى تتجنب كذلك تركيز المخلفات من جراء الفصل الطبقي للمركب .

* وبالنسبة للمواد الزراعية الخام والتى تتضمن الفواكه الطازجة سواء مفسولة ام غير مفسولة والملونة والتى عوملت فى الحالة الطبيعية والخضروات الطازجة بجميع اشكالها والحبوب والبيض واللبن واللحوم وغيرها . وجميع هذه المواد يفضل ان تؤخذ عيناتها طازجة وعلى حالتها الطبيعية الا فى حالات الموز والجزر والجمبرى والبيض والسمك والفواكه والثمار الحجرية والثوم والماعجو والطبخ والسودانى فيمكن ازالة السيقان والعروش والقشرة والنوى .. الخ . فى بعض الحالات يكشف عن مخلفات المبيد فى جزء معين من العينة وهذه هى التى تؤخذ للتحليل . بالنسبة للأطعمة المجهزة اى التى تعرضت لعمليات الطهى والتجهيز والتجفيف والطحن ، ولاجراء التحليل تؤخذ العينات المجهزة كما تشحن فى الحالة التجارية . وهناك بعض الاستثناءات كما فى الاسماك حيث يفضل ان تنزع الاشواك وازالة الرؤوس والقشور والذيل والزعانف والاحشاء .

* محتويات العينات Sample Compositing :

* ضم العينات يجرى قبل اخذ الجزء الخاص بالتحليل حتى تضمن ان هذا الجزء (٢٥ - ١٠٠ جم) يكون ممثلاً للعيننة الكبيرة . وليكن معلوما ان الطحن والهرس والخلط الميكانيكى لا يعطى دائماً عينة متجانسة .. وسنحاول فى عجالة مختصرة الاشارة الى مكونات العينات وكيفية تجهيزها بصورة متجانسة .

* العينات المحتوية على مركبات الداي ثيو كربامات ونظراً للانهايار السريع لهذه المركبات فى وجود العيننة النباتية لذلك وجب اجراء التحليل فور اخذ العينات أو تخزينها تحت ظروف التجميد . وهناك استثناء من القواعد العامة فى حالة احتواء السلعة المصنعة فى الطماطم والتفاح والبرتقال لأنها تتطلب تقطيع وهرس فى جهاز الهضم وفى بعض الحالات تؤخذ عينات كاملة وتجمد قبل التقطيع . فى حالة العينات ذات الوحدات الصغيرة مثل الحبوب والكرز والسودانى والبسلة والقول تؤخذ عينات فى حدود ٤ رطل وتجزأ لأربعة اجزاء ثم تؤخذ العينة الممثلة فى حدود واحد رطل للطحن . فى حالة العينات الكبيرة المتجانسة مثل الزبد والجبن لا داعى لتسييح السمن ولكن تؤخذ اجزاء من كل عبوة أو من كل بلوك كما فى الشكل التالى :



* بالنسبة لاجزاء العينات التى تحفظ من العينة الكلية تؤخذ ويختار ثلاثة اجزاء تعرف على النحو التالى : الأولى للتحليل الأساسى original analysis والثانية لاختبار صحة وكفاءة التحليل وتسمى check analysis والثالثة كاحتياطى reserve لاستخدامها فى حالات ظهور مشاكل ومعتضون على التحليل . تحفظ العينات الثلاثة فى زجاجيات محكمة تماماً بحيث لا تتعرض للانهايار وهذا يتأتى بحفظها فى الثلجات تحت التبريد العالى حتى تجاز نتيجة التحليل الخاصة بالجزء الاساسى ولا يقل العينة عن واحد رطل فى كل حالة . اما كيفية تجهيز العينات وطريقتها يمكن الرجوع الى المرجع :

Pesticide Analytical Manual Vol. I, foods and feeds,

[Extraction and clean up, section 142]

وعلى سبيل المثال يضرب البيض فى الخلاط على سرعة منخفضة لمدة ٥ دقائق ، وطحن المنتجات ذات الرطوبة المنخفضة فى طاحونة فائقة السرعة وطحن السمك الذى يجب ان يجمد قبل الطحن وهكذا لكل سلعة طريقة خاصة للتجهيز وقبل التحليل .

* تدوين نتائج التحليل Reproting Analytical Results :

* تدون نتائج المخلفات على اساس الجزء الفعلي من الغذاء الذى أخذ للتحليل ومثال ذلك السلع الزراعية الخام التى تؤخذ كل السلعة كما جهزت للتحليل واللبن ومنتجاته كمركب متكامل والمركبات والمخففات تؤخذ كل المنتج اما الخضراوات المجففة تؤخذ النتائج على اساس وزن المنتج الاصلى وقبل التجفيف والاغذية المحفوظة تؤخذ كما هى .

* بحسب مستوى المخلفات عند أو أعلى من حدود الطريقة المستخدمة فى التحليل ويعبر عن المستوى باجزاء فى المليون (ppm) وقد تحتاج لارقام تؤكد معنوية المخلفات عند المستويات المختلفة اذا كانت المخلفات اكبر من أو تساوى ١٠٠ جزء فى المليون يقرب الى اقرب جزء فى المليون ، اذا كانت فى حدود ١٠ - ٩٩,٩ جزء فى المليون تقرب مع اقرب ١,٠ جزء ، اذا كانت فى حدود ٠,١ - ٩٩٩ ر جزء فى المليون تقرب الى اقرب ٠,١ ر جزء فى المليون .

* ويشار الى المخلفات على انها آثار (trace) اذا كانت موجودة فى مستوى اقل من حدود التقدير الكمي ويجب توصيف وتعريف المخلفات خاصة المستويات الغير متطابقة . فى حالة التقدير للمخلفات المتعددة multi residue تستخدم حدود منفصلة لكل مركب لأن لكل منها وضع خاص للتحليل فى الطريقة المستخدمة والعوامل التى تؤثر فى هذا السبيل هى طريقة التحليل المستخدمة ونوع الوسط الخاص بالعينة ووزن العينة المأخوذ للتقدير وحساسية خطورة التقدير وهذه تعتمد على ظروف الاجهزة المستخدمة مثل النوع والحساسية .

* توحيداً وتحقيقاً لقياسية تقدير المخلفات بين المعامل المختلفة يجب الرجوع والاهتداء بدليل التحليل والا متؤدى الاختلافات فى الكمية التى تحقق فى الجهاز وحساسية خطوة التقدير الى الحصول على كميات مختلفة من المخلفات بين المعامل المختلفة . الاهتداء بالدلائل ضرورى لوضع قيم الحدود المسموح بها . تحسب حدود طريقة التقدير كما يلى :

$$\text{جزء فى المليون} = \frac{\text{الكمية بالنانوجرام التى تسبب استجابة } 10\% \text{ من تدريج الجهاز}}{\text{كمية العينة بالملييلجرام من العينة فى خطوة التحليل}}$$

وسأعطى مثال واحد لحساب حدود التقدير فى حالة مبيد الكلوربيريفوس (الدوريبان) عند استخدام الكروماتوجرافى الغازى المزود بصائد الالكترونات ECD من النيكل ٦٣ توصى بالحساسية ١,٥ نانوجرام بشرط ان يتم حقن المخلفات من ٣ مللجم دهن أو ٢٠ مللجم عينة كلية . ومن ثم تكون حدود التقدير فى الدهن ٠,١ جزء فى المليون كلوربيريفوس ، اما لو كان الكشف FPD تكون الحدود ٠,١٥ جزء فى المليون كعينة كلية . ومثال اخر مركب امثربوفيران الذى اذا قدر بجهاز الكروماتوجرافى فائق القدرة HPLC وحساسية ١٠ نانوجرام يستلزم حقن ما هو موجود فى ٢٠٠ مللجم لتكون حدود التقديرات ٠,١٠ ر جزء فى المليون من المركب

* هناك العديد من العوامل التي تقلل من دقة التقدير الكمي للمخلفات وهي قد تعمل بصورة فردية أو مجتمعة وهي قد تؤثر في تعريف وتحديد موقف طريقة التحليل والحدود التي قد تستخدم لتعويض تأثير عامل منها قد تؤثر على دور عامل آخر . من هذه العوامل ما هو موجود عند خطوة التقدير ويقصد بها حساسية خطوة التقدير خاصة في حالة تقدير المخلفات المتعددة لأن حساسية كل مركب في الخليط قد تختلف عن الآخر . وهناك الحساسية المحددة للكشافات حيث انها ليست جميعا ذات مقدرة لتحقيق الحساسية المطلوبة . كما ان ظروف الجهاز تلعب دورا كبيرا في هذا الخصوص فقد تعطى علاقة خطية لمبيد معين في ظروف معينة بينما لا تعطى نفس الشيء تحت ظروف اخرى . من ثم وجب على المعامل ان تختار الظروف التي تمكن الكاشفات من تحقيق اعلى حساسية واخيرا لا يمكن اغفال ماهية الشوائب والمواد التي تتداخل مع طريقة التقدير ومن ثم تؤثر على حساسية الكاشفات وهذا يؤكد على ضرورة اجراء مزيد من عمليات التنقية على العينة حتى تتلافى ذلك .

* خطوات عامة في التحليل وتقدير اخلفات :

ترددت كثيرا قبل الكتابة في هذا الموضوع ولكنني بعد ان استعرضت مكوناته تأكدت من خطورة اغفاله واهمية اتباعه . وفي هذا ما يفسر لكثير من القائمين بالتحليل اسباب عدم دقة النتائج ونقص معدل استرجاع المبيد recovery بالرغم من اتباعهم للخطوات المنصوص عليها واستخدامهم للأجهزة المتقدمة فكما سبق القول عن خطورة اخذ وتقسيم العينات واهمية الاستخلاص والتنقية . نشير مرة اخرى الى بعض المحددات :

* التبخير Evaporation :

لا بد لأي مشتغل في تقدير اخلفات وحتى اختبار جودة المستحضرات ان يحصل على المراجع التالية للأهمية :

- (1) Changes in official methods of analysis JAOAC51, 477-478
- (2) Chiba , M. and Morley, H.V. JAOAC52, 55-62 (1968)
- (3) Burbe, JA, Mille, P.A. and Bost wick D.C.AOAC, 49,999 - 1003 (1966)
- (4) Mille, P.A., JAOAC42 734-740 (1959)
- (5) Storhero, R.W. klein. h, and Rosembuog L.A. private Communication, food and drug Administration March16,1967.

وأبدأ الكلام بتحذير اى مشتغل في مجال الكشف عن مخلفات المبيدات بعدم اجراء تبخير المستخلصات المنتقاها الخالية من المواد النباتية مهما كانت الظروف للوصول الى الجفاف حيث ان اكبر فقد للمخلفات يحدث عند التبخير للوصول الى حجم قليل او الجفاف ، ولقد وجد الباحثان Morleye and Chiba حدوث تبخير وفقد كبير لمخلفات بعض المبيدات حتى مع وجود بعض

المواد خلال الاستخلاص Co-extractives ، ولقد خلاصاً الى اهمية نوعية المواد المتواجدة في المستخلص في تحديد درجة الفقد بدرجة تفوق ما تحدثه الكميات . لا يمكن استبعاد الفقد باجراء التبخير البطيء في ظروف المعمل او في خزان الغازات ولقد اوصيا بان السبيل الوحيد هو التبخير للحجم القليل في حدود ٥,٥ مليلتر وليس الجفاف .

من الاجهزة المستخدمة في التبخير السليم وحدات الغليان والمبخرات الدوارة بالتفريغ ، مركبات Kuderna - Danish - اعمدة المكثفات العاكسة الدقيقة - وحدات الاستقبال الحجمية .. لست في مجال وصف طريقة التبخير المثلى للمستخلصات المحتوية على مخلفات المبيدات حيث ان الطريقة تعتمد على كمية المخلفات المتوقع تواجدها فاذا كانت الحجم من ٣ - ٥ مليلتر تختلف الطريقة عما اذا كانت اقل من ذلك . لا يجب على القائم بالتحليل ان يتناسى او يتجاهل خطورة التبخير او التركيز للمستخلصات ...

الفصل الثانى

- * مقدمة .
- * اساسيات خاصة باجراء التجارب الحقلية .
- * مسئوليات الكيميائى .
- * مسئوليات المشتغل فى الحقل .
- * العلاقة بين الكيميائى والمشتغل بالحقل .
- * متطلبات ما قبل التحليل .
- * طرق التحليل والقياس .

اهمية المعرفة باساسيات تحليل مخلفات المبيدات وتجنب مشاكلها

Principles of Residue Analysis

مقدمة :

ظهرت فى الآونة الاخيرة ادعاءات من كثيرين يعملون فى المعامل عن وحدائتهم فى الكشف عن المخلفات .. واكتفى بالقول لهؤلاء جميعا ان الخبرة ودوام العمل فى هذا المجال دون غرور هى السبيل لتحقيق كفاءة قادرة على العمل فى هذا المجال دون غرور فالقائم بالتحليل ليس هو مكتشف طريقة التحليل ومعظم خبراء هذا الفرع من المعرفة على مستوى العالم لم يدعوا يوما انهم الأوحده ولكن التواضع مطلوب واستطيع ان اؤكد انه ليست العبرة بحدثة الاجهزة والامكانيات فالذى لم يمارس طرق التحليل البدائية لا يستطيع ان يهضم ويقدر حلالة الطرق الحديثة فمن لم يقيم بوزن المواد الفعالة وتحضير التركيزات وعمل الاستخلاص والتقية ومواجهة المشاكل المعقدة فيما قبل التحليل لا يستطيع ان اضعه ضمن رجال الكشف عن المخلفات . هذا الفرع متجدد دائما وارجو لكل عامل فيه ان ياخذ ماخذ الهواية ، وبذلك يستطيع ان يحقق الكثير . لا اطلب من الزملاء فى هذا المجال غير الالتزام ببروتوكولات التحليل وكذلك الاجتهاد المحسوب بلا مكابرة او غرور . يجب ان يتغير مفهومنا عن مساعدى المعامل فهم عصب التحليل وعليهم مسؤوليات كبيرة وخطيرة بداية من اخذ العينات وحتى فى اجراء التجارب المشرف عليها لتقدير مخلفات المبيدات ولا غشاضة فى ان مساعدى فى معمل تحليل المبيدات فى احد المعاهد العلمية فى اليابان والتابعة لشركة سوميتومو كيميكل كان فى مصاف تلاميذى ولقد تعلمت منهم الكثير واعطونى الثقة والعلم والمعرفة وعجنوا الهواية فى وجدانى وهى من اهم سمات القائم بالتحليل .

* اساسيات تحليل مخلفات المبيدات يجب ان تتناول الضرورىات الاولى لكيفية اجراء التجربة الحقلية وما قبل التحليل . وبعد التقدير يتأى عامل هام بل اهمها جميعا وهو الخاص باستقراء البيانات واستخلاص النتائج ووضع التوصيات . لذلك كان من الضرورى تناول اربعة نقاطا اساسية فى هذا الجزء على الترتيب : (١) التجربة الحقلية ، (٢) ما قبل التحليل ، (٣) طرق التحليل والقياس ، (٤) الاستقراء والتوصيات .

Citt - van Middelen

* مأخوذة عن الباحث

Department of food technology and nutrition

University of Florida, Gainesville, Florida

* اساسيات خاصة باجراء التجارب الحقلية :

لا جدال فى ان تجارب تقدير مخلفات المبيدات ذات اهمية عالية ، لذلك وجب اجرائها على عدد من المحاصيل الهامة . وهذا يتطلب اجرائها باستخدام جرعات مناسبة ومستحضرات مناسبة وطرق تحقق الهدف للكشف عن المخلفات . بمجرد اقتناع الحشرى ومسئولى المكافحة بكفاءة وفعالية مبيد ما فى الحقل يكون القرار التالى هو ضرورة تقدير مخلفات ذلك المبيد وجمع البيانات

الخاصة بالخلفات من جميع التجارب المحلية وفي الدول الاخرى . وهذه البيانات مطلوبة من قبل رجال الصناعة والشركة المنتجة للمبيد حيث انها من ضمن متطلبات التسجيل والحصول على ترخيص واحتكار المركب وقبل السماح بتداوله محليا او عالميا . كما ان بيانات الخلفات تفيد في تحديد فترة دوام فعالية المركب تحت الظروف البيئية المختلفة . وتتناول الآن مسؤوليات العاملون في مجال الخلفات والتجارب الحقلية الخاصة بها :

* مسؤوليات الكيميائي : على الكيميائي المنوط بمشكلة مخلفات المبيدات وقبل البدء باجراء وتنفيذ تجربة الخلفات اكتشاف وتبادل الآراء مع مسؤولي الحشرات وامراض النبات والمحاصيل والتربة والبيئة الشاملة . على الكيميائي ان يأخذ في اعتباره وقبل معاملة النبات او الحيوان بالمبيد العوامل التالية :

١) الخواص الطبيعية والكيميائية للمركب ، ٢) كمية انهيار وتكسير المركب في الحقل او على حيوانات التجارب ، ٣) احتمالات الفعل والنشاط الجهازى للمركب وامكانية تكوين مركبات متحولة اكثر سمية للنبات أو الحيوان ، ٤) السمية على الثدييات ، ٥) الحد المسموح بتواجده من المركبات كما وضعته هيئة الاغذية والأدوية الأمريكية على السلع مجال الدراسة ، ٦) مدى توفر وعملية طرق التحليل والكشف عن مخلفات المركب .

* مسؤوليات المشتغل في الحقل : ان الحشريون والمشتغلون بعلوم امراض النباتات وغيرهم من مسؤولي المزرعة وبعد ان يتأكدوا من فعالية وسلوك المركب في الحقل عليهم ان يتخذوا القرارات الخاصة بتجارب تقدير الخلفات في الحقل من منظور : ١) الاهمية الاقتصادية للمبيد والمحصول محل الدراسة ، ٢) طريقة وعدد مرات استخدام المبيد ، ٣) تصميم التجربة ، ٤) طريقة اخذ العينات واسلوب تجزئتها ، ٥) تخزين العينة .

* العلاقة بين الكيميائي والمشتغل بالحقل : يجب ان يكون هناك تنسيق بين الكيميائي والمشتغل بالحقل فيما يتعلق بعدد العينات واسلوب جمعها وتقسيمها وهذا سيتوقف بالطبع على طبيعة المحصول والمبيد وحجم القطعة التجريبية . ويجب ان يمتد التنسيق عن كيفية أخذ العينات وتجزئتها والاستخلاص والتخزين . وهذه العلاقة في غاية الاهمية لتحقيق دقة وسلامة التحليل .

* وهناك مشاكل وعقبات تؤثر على اداء القائم بالتحليل ودقة النتائج وتختلف الصعاب تبعا للمبيدات محل التناول ففي حالة المبيدات التقليدية يجب ان تركز جهود تقدير الخلفات على المحاصيل ذات الاسطح الكبيرة من حيث المساحة لكل وحدة وزنية طازجة .. قيل في الماضي انه لا ينصح بضباع الوقت وبذل الجهد في تقدير الخلفات على المحاصيل ذات الاسطح الناعمة مثل الطماطم والبطيخ والتفاح بالمقارنة بالحضروات الورقية .. وغيرها من النباتات ذات الأوراق العديدة والتي تستخدم كغذاء او اعلاف ، أود الاضافة الى ان هذا القول صحيح اذا اتبعت التوصيات الخاصة بالمكافحة وروعت فترات الأمان ما بين المعاملة والحصاد والتسويق ، ولكن وللأسف الشديد أصبح الإستخدام المكثف والغير واعى مع استخدام مبيدات عالية السمية على هذه النباتات يحجم ضرورة تقدير الخلفات وتعويضها بقوة القانون . وفي بعض الحالات خاصة المبيدات التقليدية

التي تذوب في الدهون تتركز في الأنسجة الزيتية لبعض النباتات ذات الأسطح الناعمة وتسبب مشكلة تتعلق بالمخلفات .

المبيدات الجهازية تمثل خطورة كبيرة من حيث مخلفاتها في النباتات المعاملة حيث أنها تنفذ وقد تكون بعيدة لحد ما عن عوامل الانهيار أو التحول الى مواد أكثر سمية داخل الأنسجة النباتية يصعب التخلص منها بالغسيل أو التجهيز . ونفس الشيء يحدث مع المبيدات الجهازية التي تضاف للتربة أو تعامل بها التقاوى وتجد طريقها صعودا الى الاجزاء الهوائية وتسبب خطورة كبيرة ، ومن المؤسف ان المزارعون خاصة في الصوب البلاستيكية يستخدمون هذه النوعيات من المبيدات بسبب سميتها العالية وكفاءتها ولنا أن نتصور حقل غناب معامل بمبيد التيميك ثم تطرح اوراق الغناب في الاسواق بعد فترة قصيرة من المعاملة .. انها حقا جرعة وأى جرعة ..

لا بد من تحليل عدد من مكررات المعاملة الواحدة في تجارب المخلفات .. ومن المثير للدهشة ان بعض مسؤولي الكشف عن المخلفات لا يؤمنون بقضية المكررات تحت زعم ان الكيمياء لا تخطئ وهذا وهم كبير لأن مصادر الأخطاء كبيرة بداية من تصميم التجارب وأخذ العينات والاستخلاص والتنقية والحقق ... الخ . ان عدد المكررات يتحدد بمدى الدقة المطلوبة في عملية واهمية التحليل وكذلك اقتصاديات العملية . ويفهم البعض خطأ ان المكررات تعنى اخذ أكثر من عينة للمحقق في الجهاز من نفس المستخلص . وما زلت اذكر احد تلامذتى في المعمل المركزى للمبيدات عندما كان بعيد التجربة كاملة اذا تحصل على اختلاف في احد المكررات الثلاثة وان كان هذا محمودا الا انه تزم غير مطلوب يدل على عدم الإلمام الكافي بأساسيات التحليل . ولقد رأيت الكثيرين يكتفون بمكررين فقط واقول اما ثلاثة أو لا ...

* لن أمل أو أشعر بتكرار نفسى عندما اتناول مشكلة العينات في اكثر من مناسبة لخطورتها وكونها من اهم العوامل المحددة لسلامة ودقة التحليل والثقة في النتائج والاعتماد عليها في وضع التوصيات الخاصة بالمخلفات . وسوف نناقش هذا الموضوع بالتفصيل فيما بعد ولكنى اود التذكيرة بان عملية تقدير مخلفات المبيدات مكلفة وتحتاج لوقت وجهد كبيرين ومن ثم يكون اسلوب اخذ اقل عدد من العينات بما يمكن من تحقيق هدف التحليل بشكل جيد يمثل فلسفة بهذا العامل الهام . بالرغم من ان الكيميائي ومسؤول التحليل يستخدم أحدث الأساليب والطرق الا أن دقة التحاليل تتأثر وتتحدد في المقام الأول بعدد العينات واخذ العينة الاصلية من الحقل . لو اخذت العينات الحقلية بطريقة عشوائية غير مدروسة لضاع وقت وامكانيات القائم بالتحليل هباء . ويدافع البعض عن هذا الخطأ بالقول ان وجود شئ احسن من لاشئ ... وهذا قول يثير العجب لأن ما بنى على خطأ يكون خطأ وقد تسبب عنه كوارث اذا علمنا ان هناك مبيدات لا يسمح بوجود أية مخلفات منها في الوسط تحت الدراسة خاصة المواد الغذائية والبان الأطفال وطعام المسنين . هناك متطلبات لضمان جودة العينة ومطابقتها للمواصفات الأول يتمثل في صلاحية العينة بمعنى ان كل جزء منها يكون ممثلا لواقع التوزيع بحيث ان أى وحدة تستخلص وتجرى عليها الخطوات التالية تكون ممثلة للمجموع . وهذا يعرف بالعشوائية ويطلق عليها العينة العشوائية ... وكما سبق

القول « المدروسة » . والثاني خاص بالتمثيل Representativeness بمعنى ان العينة ليست عشوائية فقط ولكن اى جزء منها يطابق تماما العينة الكلية . بالطبع لا توجد عينة ممثلة للواقع ١٠٠٪ لذلك تكون العينة المقبولة تلك التى لا تختلف عن الأخرى الا فى الحدود الخاصة بالخطأ التجريبي . لا بد ان تسلم بوجود اختلافات من عينة لأخرى ومن منطقة لأخرى لذلك يجب ان يكون حجم العينة من النباتات الورقية اكبر من عينات الثمار لأن الاختلافات بين العينات الأولى كبيرة كذلك فالثمار كالبرتقال والتفاح ذات سطوح غير متجانسة لحد كبير من حيث المساحة . لنا ان تصور أخذ عينات من حقول الملوخية أو السبانخ وغيرها بالمقارنة بالتفاح .

قد تؤخذ العينات بأسلوب سليم ولكنها تتداول أثناء النقل والتخزين بأسلوب خاطئ ثم نتكلم عن دقة النتائج وترحم على غياب توصيات دقيقة للمخلفات .

متطلبات ما قبل التحليل Pre-analysis requirements :

* بعد أن تؤخذ العينة الصالحة والممثلة للمجموع وتجزأ وتنقل للمعمل وتخزن او لا تخزن تتمثل الخطوة التالية للقيام بالتحليل فى كيفية الفصل الكمي للمبيد تحت الدراسة من الوسط الموجود فيه ونفس الشئ يقال عن ممثلات هذا المبيد ، فكثيرا ما يركز الباحث على الكشف عن المركب الاصلى وينسى أو يتناسى نواحي تحوله والتي قد تكون اكبر سمية . أول خطوة تعنى الاستخلاص Extraction يجب ان تجرى بأسلوب وطريقة مناسبين بما يعكس الوضع الحقيقى للمخلفات فى العينة . لقد اشار Bann عام ١٩٥٧ وهذا كلام قديم ولكنه ما زال صالحا وفى غاية الاهمية الى انه توجد ثلاثة طرق للاستخلاص الخاص بمخلفات المبيدات : الأول يتمثل فى غسيل السطح الكلى للنبات بالمذيب العضوى والمناسب والثاني يتمثل فى هرس السطح النباتى مع كبريتات الصوديوم اللامائية ثم تستخلص بالمذيب المناسب (كبريتات الصوديوم اللامائية لازالة الماء) والثالث يتمثل فى هرس السطح النباتى مع المذيب العضوى أو أكثر من مذيب . لا بد ان يختار المذيب العضوى بحيث تكون قابلية المبيد للذوبان فيه عالية وتجري عملية الاستخلاص لفترة محددة تضمن عندها حدوث توازن بين المكونات الموجودة فى الوسط .

* ان عدم التوفيق أو الاجتهاد فى إختيار مذيب عضوى يختلف عما هو مطلوب ومتفق عليه يؤدى الى نقص فى كفاءة عملية الاستخلاص ، لذلك وجب على كل باحث ان يجرى دراسة أولية لتحديد معدل استرجاع المبيد من جراء جميع العمليات المتتابعة بداية بالاستخلاص . وغيره من المعلومات الأولية التى يجب ان يلم بها القائم بالتحليل ما هو خاص بالقطبية والذوبانية والتوزيع الجزيئى للمركب مجال الدراسة والملاحظات المتوفرة فى المعمل .

* الطريقة الأوثى الخاصة باستخلاص كل السطح النباتى المعامل تتسم بالسهولة والسرعة ومن عيوبه عدم تحقيق الاستخلاص الممثل للمجموع وكذلك عدم استخلاص المبيد الذى يتخلل داخل السطح النباتى ولكنها تصلح لاستخلاص العينات النباتية ذات السطوح الملساء كالفاكهة .

* الطريقة الثانية والثالثة الخاصة بطحن العينة في وجود أو عدم وجود كبريتات الصوديوم اللاصقة سواء بمنزيب واحد أو مخلوط من المذيبات العضوية تتوقف كفاءتها على كمية الجزء النباتي في المستخلصات فلو حدث الهوس لكل وحدات النسيج النباتي أو الحيواني كانت النتيجة أفضل كثيرا من الهوس الغير كامل . ويلجأ البعض للنقع مع المذيب لفتترات طويلة وهذا جائز ولكن الفاصل يمكن في نسبة الاسترجاع Rate of Recovery .

* عندما عادت بي الذاكرة الى أواخر الستينيات عندما كنت اعمل في درجة دكتوراه كيميائية المبيدات وكنت اقوم باستخلاص عدد من المبيدات الفوسفورية والكارباماتية من المحاليل المائية للتربة وكنت استخدم مجموعة كبيرة من المذيبات العضوية وكانت المياه المترشحة من التربة مضافا اليها المواد العضوية مثل الخميرة والنشا والسماد البلدي .. الخ . ولقد صادفت مشكلة تكوين مستحلبات ثابتة Emulsion Formation في بعض الحالات مما ادى الى انخفاض كبير في معدلات الاسترجاع . ولقد قرأت واستشرت زملائي في قسم الكيمياء وتوصلت الى طرق لكسر المستحلب ورفع كفاءة الاستخلاص . لذلك اقول أنه من اصعب الامور التي قد تواجه القائم بالكشف او تحليل مخلفات المبيدات تكوين مستحلبات ثابتة عند الاستخلاص بالمذيبات العضوية للمبيدات من العينات النباتية أو الحيوانية بسبب الارتباط مع الماء الذي يتحرر من الانسجة عند الخلط . وتظهر هذه المشكلة بوضوح عند استخلاص العينات المجمدة أو المحفوظة من الاغذية . ومن الطرق التي تجتج في التخلص من هذه المستحلبات هو اضافة كبريتات الصوديوم اللاصقة لازالة الماء الحر أو استخدام مذيب مساعد Co-solvent مثل الايزوبروبانول الذي له المقدرة على اذابة المذيب المستخدم في الاستخلاص وماء العينة النباتية أو الحيوانية ومن ثم منع تكوين المستحلب

* استخدام المذيب المساعد يفيد كثيرا مع عينات الخضراوات الورقية الطازجة والمجمدة التي تحتوي على مياه كثيرة . ولا ينصح بهذه الطريقة دوما مع الاوراق النباتية والفواكه الجافة والمحاصيل الزيتية والقشريات والسوداني والحبوب الجافة وقشرة الموالح وغيرها . ان استخلاص المبيدات من التربة تحتاج لطريقة معينة تفاديا للتأثير على كفاءة الادمصاص بسبب اختلاف مستويات الرطوبة . لذلك فان استخدام الاسيتون ذو القطبية العالية يفيد كثيرا في هذه العملية مع تحقيق معدلات استرجاع جيدة ولكن يحدث استخلاص لبعض المواد المتداخلة . لذلك فان استخلاص المبيدات من التربة بمخلوط ١٠ ٪ اسيتون في الهكسان يوصى به ولا يؤدي الى تواجد المواد المتداخلة .

* بالنسبة للاستخلاص من العينات الحيوانية واللبن تلعب الصفات الكيميائية للمركب دورا كبيرا في تحديد كفاءة العملية . يمكن استخلاص المركبات الثابتة في الوسط القلوي مباشرة بالتصبن والفصل بمذيبات ايدروكربونية . اما الغير ثابتة تستخلص مباشرة بالمذيب المناسب وتفصل من المواد المتداخلة بالتحلل الحامضي او باستخدام اعمدة الكروماتوجرافى المناسبة . في الغالب تطحن الانسجة الحيوانية مع كبريتات الصوديوم اللاصقة قبل الاستخلاص .

* ازالة المركبات التي تذوب في الماء من الانسجة النباتية تصادف اخطاء اذا استخدم الماء في الاستخلاص كما ان الماء الموجود في العينات يتحدث تخفيف للعينات . لذلك يفضل استخلاص هذه المركبات بالكلوروفورم .

* بعد الاستخلاص يجب ان تخزن العينات المختوية على الخلفات فى ظروف مناسبة بما لا يسمح أو يحدث خلالها تغير بسيط أو فقد قليل فى الخلفات حتى ما قبل التحليل النهائى اذا كان هناك امر قضائى أو مشكلة خاصة بالتسويق أو حدثت ظروف قاهرة تحول دون اجراء التحليل فى الوقت المناسب قد تخزن العينات لمدة طويلة تمتد من ستة شهور وحتى عام كامل . المبيدات الفوسفورية اكثر حساسية للانهيار والتطاير خلال التخزين بالمقارنة بالمبيدات الكلورينية التى يمكن ان تخزن مستخلصاتها لمدة طويلة جدا دون خوف على درجة حرارة ٤٠ فهرنهايت فى زجاجيات محكمة القفل . اما مستخلصات المبيدات الفوسفورية يجب ان تحفظ تحت التبريد فى أوانى غاية فى الاحكام . وهناك بعض الدراسات التى اكدت حدوث انهيار بسيط للمبيدات الفوسفورية العضوية عندما خزنزت على درجة صفر فهرنهايت . كما اشار walker عام ١٩٦٠ الى ان مستخلصات مبيدات الكلوروفورم وايثير البترول تبيخر على درجة ٢٠ م أثناء التخزين ، وكرر مرة اخرى ان الفاصل فى هذا السبيل هو معدلات الاسترجاع حيث يمكن التأكد من سلامة التخزين بوضع عينة مقروءة أى محتوى على كمية معلومة من المبيد تحت نفس الظروف وتقدير معدل الاسترجاع وبذلك يمكن الحكم على دور التخزين وما اذا كان مناسباً أم لا بشرط التحكم فى جميع الظروف السابقة . واحذر مرة أخرى من تخزين المستخلصات ولكن يمكن تبخير المذيب كما سبق القول وتخزين فيلم الخلفات فى ظروف التجمد العالية منعاً للانهيار . ان وجود بعض المذيبات يسبب تحلل مائى بالمذيب solvolysis .. وسوف نتناول هذا الموضوع بالتفصيل فيما بعد لأهميته .

* بالرغم من اننى سأتناول موضوع تنظيف العينات بالتفصيل فيما بعد الا إننى اود الاشارة فى عجلة بسيطة الى اهمية هذا العامل الذى يسبق التحليل النهائى ويدخل فى مصاف التجهيز يجب اخراج المستخلصات المحفوظة من الثلاثات عالية التبريد قبل يوم واحد من إجراء التحليل وتوضع على درجة حرارة ٤٠ ف حتى تسيح وبعد ذلك تجرى عليها عمليات التخلص من الشوائب أو التنقية Purification وأنا لا أفضّل هذا الاصطلاح هنا وافضل عليه التنظيف clean-up أى عزل المبيد من الانسجة (على أو فى) الحيوانية أو النباتية باستخدام المذيب المناسب ويجب أن يكون الفصل كميًا من المواد المتداخلة . لا يمكن ان يغفل العلماء الذين وضعوا الأساسيات فى هذا المجال امثال Gunther and Blinn (١٩٥٥) و Schechter and Hornstein (١٩٧٥) . فى العادة تختلف طريقة التنظيف تبعاً لطريقة التحليل التى ستتبع فى تقدير الخلفات . معظم طرق التنظيف لا تعدى واحد أو أكثر من الطرق التى وصفها الباحث Bann (١٩٥٧) حتى ظهرت الطرق الحديثة الى ان شاهدنا امكانيات عالية للكشف عن الخلفات دون تنظيف ... والطرق الاربعة تتمثل فى : (١) الفصل الكروماتوجرافى وتصلح فى حالة المواد ذات الادمصاص اللا متخصص على مواد معينة أو قليلة الادمصاص ولكل اسلوبه ، (٢) الازالة أو الفصل الكيمائية للمواد المتداخلة من خلال الاكسدة أو الاختزال أو التصبن أو التحلل المائى بشرط ألا تؤثر على المبيد المراد فصله بأى شكل من الاشكال ، (٣) الفصل الطبيعى من خلال الفصل الجزئى بالمذيبات أو التقطير البخارى أو التجميد .

* الفصل الكروماتوجرافي Chromatographic separation يشمل ثلاثة انواع الأول من خلال الاعددة التي تعبأ بمادة ادمصاص ذات قطبية معينة تكون قادرة اما على مسك المبيد والسماح للشوائب بالتزول مع مذيب الاذاحة أو مسك الشوائب والسماح للمبيد بالاذاحة . ان اختيار المادة المناسبة للادمصاص يتوقف لحد كبير على قطبية المركب نفسه فالمركبات ذات القطبية المنخفضة يمكن فصلها من المواد المتداخلة عالية القطبية باستخدام مجموعة كبيرة من مواد الادمصاص . أما المواد ذات القطبية المتساوية أو اعلى من الشوائب يمكن فصلها باستخدام مادة ادمصاص ذات قابلية كبيرة لادمصاص المبيد دون غيره حيث تتراح الشوائب بالمذيب تاركة المبيد بنفسه الذى يتراح بعد ذلك باستخدام مذيب اكثر قطبية . لقد طورت العديد من الاعددة الكروماتوجرافية مثل عمود Davidow ذو الكفاءة العالية فى فصل المبيدات الثابتة فى الوسط الحامضى من المواد المتداخلة الجلسريدية كما ان استخدام الراتنجات ذات المقدرة التبادلية للايونات اصبح شائعا منذ عام ١٩٥٦ Gueto وآخرون) وحتى الآن ...

ثبت كفاءة فصل المبيد من الشوائب او من نواتج تمثيله او فصل مخلوط المبيدات باستخدام الكروماتوجرافي الورقي واصبح وسيلة لا غنى عنها فى اى معمل تحليل لسهولةا وحساسيتها ، ونفس الشيء على الكروماتوجرافي أو الألواح الزجاجية . وهذا الأسلوب يحتاج لمهارة وخبرة واذكر ما عانيت من فصل المبيدات الكلورينية فى الستينيات عندما كنت استخلم نترات الفضة واغمس الورق فى زيت السليكون وقد صادفتى عقبات ازرقاق الورق وليونه اكثر من اللازم وتمزقه ... الخ . من العقبات التى اخذت وقتا وجهدا للتغلب عليها .. والآن نساعد جميعا بالكفاءة العالية واجهزة الكروماتوجرافي الغازى والسائل وذو المقدرة الفائقة فى فصل المبيدات من المواد المتداخلة والشوائب وهذا ما يحتاج لخبرة كبيرة .

*** اذا لم يكن التنظيف بالطرق الكروماتوجرافية مرضيا وقياسيا يكون هناك احتمال ان تتغير المواد المتداخلة من جراء تفاعلها مع الاحماض أو القواعد أو المواد المؤكسدة الموجودة فى الوسط مما يؤدى لتكوين مركبات ذات ذوبانية مختلفة عما هو الحال فى المبيد المطلوب تحليله لذلك يكون اللجوء للطرق الكيميائية chemical separation للتخلص من الشوائب ضروريا ... ومن هذه الطرق البسيطة والسهلة والتى تحتاج لخبرة .

(١) الاكسدة .. حيث يمكن فى بعض الحالات اجراء اكسدة للمستخلصات أو اكسدة للعينات المحتوية على المبيدات ثم اجراء الاستخلاص المناسب لانتاج مركبات عديمة اللون خاملة أى غير قادرة على الدخول فى تفاعلات ومن ثم لا تتداخل مع الجواهر الكاشفة الخاصة بالتقدير للمبيد او يمكن فصلها بسهولة عن المبيد دون اية اضرار او مشاكل . وفى هذه الحالة يجب ان يكون المبيد المستهدف مقاوما للأكسدة ، وقد تستخدم الاكسدة لتكسير أو تغيير التركيب الكيميائى للمبيد مما يؤدى لانتاج مشتق أو أكثر يمكن فصله من العينة النباتية أو الحيوانية المستخلصة . اكسدة بعض المواد الفوسفورية العضوية قد يكون ضروريا لتقديرها بطريقة تثبيط الانزيم الاسيتيل كولين استيريز حيث ان بعضا من هذه المبيدات تكون ضعيفة التأثير على هذا الانزيم

لذلك فإن الأكسدة باستخدام حمض فوق الخليك أو غيرها من المواد المؤكسدة تحولها إلى الصورة الفعالة للتقدير بالانزيم .

(٢) إذا كان المركب المطلوب تقديره ثابت في الوسط القلوي يمكن إجراء تصبب للمركب باستخدام الصودا الكاوية الكحولية . وهي من أحسن الطرق لتنظيف المبيدات من المركبات الدهنية الجلسريدية الموجودة في العينات . عندما يكون المركب مقاوم للأكسدة يمكن التخلص من العديد من المواد المتداخلة الغير مشبعة من خلال الأكسدة ثم جعلها أقل ذوبانية في مختلف المذيبات العضوية .

(٣) لقد شاع استخدام أسلوب التحلل المائي في الأعمدة كوسيلة للتنظيف من الشوائب حيث استخدم في البداية مخلوط ١ : ١ من حامض الكبريتيك المركز والمخفف ٢٠ ٪ لتنظيف العينات النباتية والحيوانية قبل إجراء التقدير الحيوي لمركبات الـ د د ت و سادس كلوروز البنزين . كما استخدم محلول ١٠ ٪ من حامض الأيدروكلوريك في تقدير الباراثيون .

(٤) يمكن استخدام أسلوب الاختزال لتحويل المبيد إلى صورة أو مشتق آخر مما يسهل فصله من الشوائب كما هو الحال مع مبيد الباراثيون حيث يستخدم الزنك وحامض يد كل لاختزال مجموعة النيترو إلى الامينو مع تكوين ملح الديازونيوم قبل الارتباط .

* كما سبق القول يضم الفصل الطبيعي للمركب أو الشوائب Physical separation ثلاثة طرق : (١) الأولى تعرف بالفصل الجزئي بالمذيبات العضوية Solvent partition وهي تستخدم عندما يكون المركب أكثر ذوبانية في مذيب معين بينما المواد المتداخلة تذوب في مذيب آخر ومن ثم يفضل ألا يكون هناك توافق خلطي بين المذيبين بينما يذوب المركب فيهما ولكن بأفضلية كبيرة تجاه أحدهما بالمقارنة بالآخر . ولقد استخدمت هذه الطريقة كثيرا لفصل المبيدات من الدهون والشموع الموجودة في العينات . ومن الضروري التخلص من الصبغات والأتربة قبل إجراء عملية الفصل الجزئي . وإذا لم يكن القائم بالعملية مدربا يحدث فقد كبير في المبيد ومن ثم تقل معدلات الاسترجاع . (٢) والثانية هي طريقة التقطير البخاري Steam distillation وتستخدم في حالة المبيدات المتطايرة ، (٣) والثالثة تمثل طريقة التجميد أو التبلور Freezing or crystallization تفيد في حالة احتواء المستخلصات على دهون أو شموع بكميات كبيرة حيث يمكن ترسيبها بعد تركيز المستخلص في حمام ثلج جاف مع الأسيتون . ولقد ساعد هذا التكنيك في التخلص من الدهون والشموع في المستخلصات النباتية أثناء دراستي للدكتوراة مع المبيدات الفوسفورية العضوية عندما كنت أقوم بالكشف عنها وتقديرها كيميائيًا بطريقة لونية Getz لأن وجود أية مواد دهنية كان يؤدي إلى حرق العينات في حمام الزيت على درجة ١٧٠ ° م . ولقد استخدمت هذه الطريقة عند فصل الـ د د ت من مستخلصات ثمار الأفوكادو ، ومن المؤسف أن الباحثين اليوم يتجاهلون هذه الطرق البسيطة والسهلة والطبيعية والسريعة .

* يمكن استخدام الطرق البيولوجية في تكسير الشوائب ومن ثم يسهل فصلها عن المبيد وهناك العديد من الكائنات الدقيقة والانزيمات التي تقوم بهذا العمل . إن تعريض العينات المحتوية

على دهن فى حدود ٥ جرام يمكن التخلص منها باضافة عصير البنكرياس ، وليكن معلوما ان أى اضافة للمستخلص يجب الا تؤثر على تركيب وصفات المبيد .

* طرق التحليل والقياس Analytical measurement :

أود التذكرة الى ان القائم بتحليل المبيدات يجب ان يتعلم اولا ويتدرب على الطرق الاولى او ما تسمى اليوم البدائية . ولم جيدا باساسيات التقدير حتى يستطيع حل اى مشكلة تواجهه والتفكير المنظم الواعى وكم شاهدت العديد من الباحثين لا يستطيعون التفكير عند اول مشكلة تواجههم بسبب نقص الخبرة وعدم الالمام بالمعلومات الاساسية عن التحليل . ولا انكر انه حدث تقدم رهيب فى طرق التحليل ولكن تظل الاساسيات اساسية .. ويمكن سرد الطرق الخاصة بالتحليل باختصار شديد فيما يلى :

* من اكثر الطرق شيوعا فى تقدير المخلفات الطرق اللونية أو الفوتومترية وأساس طريقة الاسبكتروفوتومترية يتمثل فى الاستفادة من خاصية الامتصاص الاختيارى للطاقة المنبعثة من المركب الكيميائى . الطرق اللونية تشمل ثلاثة معايير هى التقدير بالاشعة فوق البنفسجية والضوء المرئى والاشعة تحت الحمراء وجميعها تتميز بالكفاءة والحساسية . وهناك ايضا طرق النيفلومترية والفلوريمترية ولكل خصائصه ومقدرته .. وهلى الباحث ان يختار ويجرب والفصل عنده هو الحساسية والكشف عن المخلفات الدقيقة .

طريقة الاشعة فوق بنفسجية (UV) تستخدم لقياس المركبات الصلبة أو نواتج تمثيلها والتي تمتص الطاقة فوق بنفسجية وتحدث حزم امتصاص عالية ويتطلب هذا الاسلوب اجراء عمليات تنظيف جيدة كاملة بالمقارنة بالطرق الاخرى وهى طريقة سريعة وحساسة ومتخصصة .

أما طريقة القياس فى الضوء المرئى هى الاكثر شيوعا وتعتمد على اضافة مجموعة ملونة الى المركب او الحصول عليها من المركب نفسه بتفاعلات معينة للحصول على لون يتدرج فى الكثافة تبعا للتركيز . من احسن الطرق اللونية تلك الخاصة بالاشعة تحت الحمراء فى مجال تعريف المركبات لأن لكل مركب امتصاص معين ومحدد للطفيف . ولقد استخدم البعض الكروماتوجرافى الغازى لتنظيف العينات ثم اجرى القياس الكمى بالاشعة تحت الحمراء . اما طريقة النيفلومترى والفلوريمترى يعانين استغلال خاصية انبعاث الفلوروسينس من المركبات التى يجب ان تحتوى على مجموعات جزيئية مناسبة حساسة للتحويل الى حالة الكترونية هالجة أو نشطة تقاس بالفلوروسينس . ولقد استخدم احد زملاء « أ . د . فتحي عفيفى الاستاذ بقسم الوقاية » هذه الطريقة أثناء دراسته للماجستير عن توزيع قطرات الرش على الاوراق النباتية حيث اضاف مادة فلوروسينية لحلوى الرش ثم اجرى تصوير فوتوغرافى وقام بقياس قطرات الرش (حجم - عدد ...) ومن يومها لم اسمع أو اشاهد زميلا اجرى هذا الاسلوب بالرغم من اهميتها وحساسيتها .

* طرق القياس الالكترونية Electrometric وهى تستخدم لقياس المركبات الايونية او

الايونات الناتجة من تحول المركبات مثل الكورين او البرومين وهى تشمل عدة وسائل مثل قياس فرق الجهد potentiometric والقياس الكهربي والمعايرة Amperometric والبولاروجرافية Po-larographic والمعايرة Coulometric . المركبات الهالوجينية العضوية يمكن تقديرها بطرق متعددة منها اجراء تحليل للهالوجين من خلال التكتيف العاكس مع الصوديوم فى الايثانول او الايزوبريانول . فى طريقة فرق الجهد Potentiometric يوضع الكترود فضاء فى الوسط ويقاس فرق الجهد الذى يحدثه المركب مقارنة بالكترود القياسى . وفى الثانية الخاصة بقياس التيار am-perometric الذى يقاس عند فولت ثابت ثم تتم المعايرة فى وجود المركب ويلاحظ الفرق . أما الطريقة البولاروجرافية Polarographic فتعتمد على التحليل الكهربي لأحد مكونات المحلول فى خلية تتربك من الكترود قطبى صغير وسهل الاستقطاب واخر غير قطبى . الفولت اللازم للتحلل الكهربي يوضح طبيعة المادة المتفاعلة بينما التيار الملاحظ يوضح وظيفه التركيز . لم يجد هذا التكنيك طريقة الى التطبيق العملى فى الكشف عن المخلفات حتى اليوم بسبب عدم فهم التعقيدات التى تحدث من المواد المتداخلة والموجودة فى المستخلص . ان حساسية هذه الطريقة فى حدود ٢ مللجم/ ١٠٠ ملليتر محلول ... هذه الطريقة تتطلب فصل وتنقية المبيد من كل الشوائب بدرجة كبيرة لذلك كانت هذه الطريقة محدودة الكفاءة . اما طريقة المعايرة coulo-metric ثم دمجها مع الكروماتوجرافى الغازى منذ ١٩٦٠ (Coulson وزملاؤه) حيث يعمل الاخير على التعريف الوصفى لخلفات المبيدات الكلورينية ثم تأتى خطوة معايرة ايون الكلوريد الناتج من انحلال المركب العضوى فى منطقة الاحتراق التى تقع فى نهاية عمود الكروماتوجرافى والتى تحول بالاكسدة المبيد والمواد العضوية مثل ثانى اكسيد الكربون والماء والكلوريد وثانى اكسيد الكبريت . تحدث معايرة كلوريد الايدروجين وثانى اكسيد الكبريت باستمرار وبطريقة اوتوماتيكية من خلال الايونات المتولدة فى خلية المعايرة المرتبطة بمنطقة الاحتراق . معنى هذا انه بالكروماتوجرافى الغازى يمكن فصل العديد من المركبات وتعريفها من خلال المعايرة الكولومترية ثم تحديد كمياتها

أما طريقة القياس الالكترونى Electron affinity تتمثل فى قياس الايونات المنبعثة بواسطة كاشفات فى غاية الحساسية كما فى الكروماتوجرافى الغازى صائد الالكترونات Electron capture وهذه الطريقة شائعة جدا وتفيد فى قياس الايدروكربونية عديدة التركيب الحلقى حيث يمكن بعمليات تنظيف بسيطة قياس كميات من المبيدات الكلورينية فى حدود نانوجرامات (١٠-٩ جرام) وعن طريق تحمسين كفاءة الكاشف يمكن قياس كميات اصغر فى حدود ١٠-١٢ جرام .

وهناك طريقة المعايرة التوصيلية Conductometric titrations عندما تعتمد نقطة التقدير النهائية على التغير فى درجة التوصيل الكهربي فى المحلول الذى سيعاير نظرا لانفراق ايونات فيه ولا تفيد هذه الطريقة فى قياس الكميات الصغيرة .

* طرق التقييم الحيوى Bioassay وفيها تستخدم الكائنات الحية فى الكشف عن مخلفات المبيدات ولكن حساسيتها تختلف ، لذلك لتحقيق الكشف عن كميات صغيرة فى حدود ١، ٠ - ١ جزء فى المليون لابد من اختيار كائنات شديدة الحساسية للمبيدات مثل الذباب المنزلى و يرقات البعوض والدافنيا والأسماك والجمبرى . خلافا لما هو سائد يجب اجراء عمليات التنقية وتنظيف المستخلصات قبل اجراء عملية التقييم الحيوى . ومن افضل الطرق استخدام الانزيمات فى التقدير وهى تعتمد على مقدرة المركب على تثبيط النشاط الانزيمى ويعيب هذه الطريقة عدم التخصص فى الفعل وعلى سبيل المثال فان العديد من المبيدات الفوسفورية والكارباماتية ونواحي تمثيلها تثبط نشاط انزيم الاسيتايل كولين استيريز ولكن بدرجات متفاوتة . وتعتمد طرق القياس على تقدير الانزيم الذى لم يتحلل او الذى تحلل او حمض الخليك المنفرد او كمية الاسيتايل كولين التى لم تشارك فى التفاعل .. الخ . وسنفرّد فى هذا الكتاب جزءا كاملا عن استخدام الكائنات الحية Bioindicators فى الكشف عن مخلفات المبيدات . بعض البحوث يعتقد خطأ ان طريقة التقييم الحيوى ليست دقيقة نتيجة للثقة الكبيرة فى التحليل الكيميائى خاصة الاجهزة القديمة والمتقدمة . ولكن تجربتى الشخصية وشاركنى الكثيرين تقول عكس ذلك ، فعندما كانت الطرق الكيميائية تشير الى عدم وجود المخلفات فى الماء او التربة أو فى النباتات كنت الجأ الى طريقة التقييم الحيوى للتأكد وكان العامل المحدد هو الاختيار السليم لكائن الاختبار ، فقد استعملت يرقات البعوض والعنكبوت الاحمر .. الخ . لذلك لا غشاضة على الباحث ان يتأكد من النتائج باكثر من طريقة بما فيها التقييم الحيوى .

* هناك طرق التقدير الاشعاعى Radiometric وهو يعنى فى بداية استخدامه العمل بالمواد المشعة أما الآن يعتمد على تنشيط النيوترون فى الأجهزة الخاصة بذلك . تستخدم طريقة تشعيع المبيدات فى موضع معين labelling لدراسة سلوكها ومخلفاتها فى الغذاء من ناحية الامتصاص والتحرك والانهياف والتمثيل . وقد استخدمت هذه الطريقة كذلك لدراسة كفاءة الاستخلاص والتنظيف وتقدير معدلات الاسترجاع مع كل خطوة . اما طريقة تنشيط النيوترونات Neutron activation وهى تعتمد على ادخال النيوترونات فى العينات وكذا المواد القياسية كى تتحول العناصر الثابتة الى نظائر مشعة غير ثابتة isotopes وهذه يمكن تعريفها وقياسها كيميا وهذه يصاحبها عد وتمييز خصائص الاشعة المنبعثة من النظائر والبيانات تدجج الكترونى بما يسمح بتكوين طيف متميز . عندما ينبعث اشعاع ذات مستوى طاقة متماثل من نيوكليدين او اكثر يؤخذ نصف فترة حياة النيوكليدات للفرقة بين العناصر . لقد نجح هذا الاسلوب فى تقدير المبيدات الكلورينية فى اللبن وحتى حساسية ١٠ جزء فى البليون ، ويعيب هذه الطريقة أنها غير متخصصة ومن مزاياها انها تحتاج لعمليات تنظيف بسيطة وسوف نشير الى هذه الطريقة بالتفصيل فيما بعد .

سواء اجرى التحليل بالطرق الكيميائية أو الحيوية أو غيرهما يجب ان يعرف الباحث أو مسئول التحليل كيف يناقش نتائجه ويدونها ويحصل على الاستنتاجات المطلوبة بما يتفق مع الهدف من التحليل . مع تقدم علم الحاسب العلمى اصبح من الضرورى ان يكون الباحث على دراية بأسلوب

التعامل مع هذه التكنولوجيا المتطورة وعليه ان يجرى التحليلات المتطورة وعليه أن يجرى التحليلات الاحصائية والرسوم البيانية بنفسه ولا غضاضة فى السؤال والاستعانة بذوى الخبرات فى هذا المجال .. وعلى الباحث ان يلم بمعايير قياس المخلفات والتعامل معها مثل منحنيات اختفاء المركب ونصف فترة الحياة للمبيد وفترات الامان ما بين المعاملة والاستهلاك الأدمى وحد التناول اليومى المسموح به .. الى غير ذلك .

لقد أثرت على نفسى الافوت فرصة شرح اول الأوليات فى التحليل الخاص بالمبيدات وغيرها من الملوثات الا وهو كيفية عمل المنحنى القياسى بالطرق الكيميائية أو الانزيمية أو الحيوية وهو ما يطلق عليه Standard Calibration curve أو منحنى السمية Mortality curve وكما هو واضح من التسمية فهو منحنى ولكنى اصبح فهو خط اى علاقة خطية بين Linear relation ship متغيرين واذا لم يكن خط مستقيم وجب تعديله بالطرق الاحصائية المتعارف عليها سواء باللوغاريتمات أو بالاحتمالات وكلاهما سوف يشرح بالتفصيل فى ابواب تالية . ان عدم معرفة كيفية إقامة هذه العلاقة بعيد تماما عن اساسيات التحليل . العلاقة الخطية بين تركيز المبيد Concentration وأى صورة من صور الاستجابة Response والتي تكون اما لونية أو تثبيط انزيم او غاز منفرد أو كمية مادة وسيطة لم تدخل فى التفاعل او عكارة أو راسب من تفاعل ما أو نسبة موت فى التقييم الحيوى . لابد للاستجابة ان تكون متدرجة مع التركيز بمعنى زيادتها أو نقصها مع زيادة التركيز وليكن معلوما ان هذه العلاقة ليست طردية تماما بمعنى انه عند حد معين لن تحدث استجابة حيث لن تكون هناك فروق يمكن التفرقة بينها بواسطة وسيلة القياس بمعنى انه اذا كانت حساسية جهاز قياس الالوان لا تستطيع ان تقيس اكثر من تركيز معين فلا معنى لقياس تركيز اعلى ونفس الشئ مع التركيزات الواطية التى لا تعطى استجابة يمكن قياسها وكلاهما خارج حدود ونطاق المنحنى القياسى . واذا اردنا التأكد يمكن التخفيف مع التركيزات العالية أو التقوية fortification مع التركيزات الواطية بمعنى اضافة كمية معينة معروف استجابتها القياسية من تكرار التجربة وبعد ذلك تقاس الاستجابة الجديدة والفرق يمثل كمية المبيد الموجودة والتي لا يستطيع الجهاز قياسها او نلجأ لاختبار تأكيدى حيوى أو خلافه .

على الباحث ان يعرف كيفية تحضير التركيزات فعليه ان يحضر محلول قياسى به تركيز عالى ثم يجرى التخفيف ببعض المذيب ويجب الا يخزن المحلول القياسى لأكثر من شهر ، واذا كانت المادة القياسية متوفرة يفضل ان يحضر طازجا وليكن معلوما ان اى خطأ فى وزن العينة الأولى سيترتب عليه خطأ كبير وفشلا فى التحليل ، ونفس الشئ مع اى خطأ فى تداول التركيزات وكذلك فى تجهيز المحاليل القياسية الوسيطة .. لا غضاضة فى ان اذكر بخطورة عدم استعمال زجاجيات أو أدوات غير نظيفة أو كيميائيات غير نقية أو العمل فى معمل ملوث .. ما دمنا بصدد الكلام عن منحنى قياسى يجب ان يكون كل شئ قياسيا .

يجب الحصول على المواد القياسية للمبيدات من مصادر موثوق بها وعلى الباحث ان يتأكد بنفسه حتى لو حصل عليها من مصادرها الاصلية فقد تحدث اخطاء وكثيرا ما حدثت . وهناك حدود لامكانية عمل المنحنى القياسى من المستحضرات التجارية لما تحتويه من مواد اضافية قد تتداخل مع طريقة التقدير لذلك وجب اجراء التنقية ثم تعريف للمادة الفعالة المنقاة قبل العمل بها . هناك شركات كثيرة تباع المواد القياسية للمبيدات وغيرها من الملوثات البيئية وهى وان كانت غالبية الثمن الا ان الحصول عليها ضمان كبير لعمليات التحليل . والعينات القياسية يجب ان تخزن فى ثلاجة شديدة التبريد حتى لا تتحلل او تتكسر او تتحول الى مواد اخرى وبعد خروجها من الثلاجة عند الوزن او أخذ حجم معين تترك فى درجة حرارة الغرفة حتى يكون الوزن او الحجم دقيقا . وعلى الباحث ان يتأكد بنفسه من بيانات العينة القياسية ويلاحظ اية تغيرات فى الشكل او اللون او القوام من جانب الأمان . واذا حدث اى شك يجب اجراء اختبار تأكيدى سريع لأحد الصفات الطبيعية أو الكيميائية ويمكن استعمال الفصل الكروماتوجرافى السريع على الألواح الزجاجية (TLC) .

لقد لاحظت ان البعض يبدأ المنحنى القياسى من عند نقطة الصفر وهذا به مغالاة لأن اى طريقة تحليل تبدأ الاستجابة عند تركيز معين ولا استجابة للصفر تركيز ، لذلك وجب ان يكون الخط من الصفر وحتى اول تركيز يعطى استجابة خط متقطع (—) . بعد رسم العلاقة الخطية يحدد ميل الخط Slope حسانيا من معادلة الخط المستقيم (ص = م س + جـ) حيث م هي ميل الخط ولا يجب ان يكون هناك قاطع (جـ) الا فى حالات خاصة وبغية الميل (م) أو k-value فى حساب التركيزات المجهولة بعد تقدير الاستجابة من العينات الغير معلوم تركيز المبيد فيها .

يجب الا تقل عدد التركيزات لاقامة المنحنى القياسى عن اربعة ويفضل ان تكون خمسة وان كان البعض يعمل المنحنى بثلاثة تركيزات فقط وان جاز ذلك فى معامل تقدير جودة المستحضرات Quality control فلا يجوز فى معامل الكشف عن المخلفات . كما سبق القول هناك التركيز القياسى الذى يستخدم فى تقوية العينات المحتوية على كميات اقل من حدود التقوية وهى تعطى نفس الاستجابة كلما كرر التقدير وهو ما يعرف بالاصطلاح Reproducible ، كما ان هناك المادة القياسية الداخلية Internal standard وهى تضاف الى العينات بهدف التصحيح والتأكيد ففى حالة عدم استقرار التيار الكهربى - على سبيل المثال - وهو امر شائع فى كثير من المعامل فى الدول النامية تكون وسيلة المادة القياسية أو المعيارية الداخلية مطلوبة بل ضرورية لتصحيح العينات وكذلك للتأكد من سلامة ظروف التشغيل فى حالة الكروماتوجرافى الغازى ..

عينات المقارنة من اخطر الاخطاء وهى ما تعرف Blank test وهى العينات التى تحتوى على جميع الجواهر الكشافة والمواد الوسيطة التى تضاف للعينة فيما عدا المبيد وكثيرا ما ادى تجاهل او الجهل بأهمية هذه العينات الى فشل وعدم دقة التحليل لأن المواد الوسيطة كثيرا ما تعطى نفس

الاستجابة التي يحدثها المبيد اذا كانت غير نقية وتحتوى على شوائب . وقد تجرى أكثر من عينة للمقارنة قياسية كما فى حالة التقديرات الانزيمية احدهما لتقدير نشاط الانزيم والاخرى لتقدير استجابة الشوائب . اكرر القول ان المعايير هى الأساس والقياسية هى العامل المحدد لنجاح التحليل . هل يتصور احد ان يقوم باحث بالكشف عن المبيدات الكلورينية باستخدام ماء الصنبور العادى المحتوى على الكلور المضاف .

ان تجربتي الشخصية اكدت اهمية معايرة المواد القياسية عندما كنت استخلص مبيد السيفين الكرياماتي من عينات التربة السلتية حيث كنت اضيف كمية معينة على وزنة معينة من التربة وبعد الاستخلاص والتنقية كنت احصل على اضعاف الكمية التى اضيفت للتربة وبعد عناء وجهد وتغيير المواد الوسيطة وتجهيز الجواهر الكاشفة مرات عديدة واستخدام الجواهر النقية اتضح ان التربة السلتية بعد اضافة الصودا الكاوية الكحولية تعطى مادة الالفانافثول وهى نفس المادة الناتجة عن التحلل القلوى لمبيد السيفين وعندما تأكدت من هذه الحقيقة كان لا بد من اجراء عمليات تنقية على اعلى مستوى واستخدام طريقة التقدير الانزيمى بدلا من الطريقة اللونية مع ملح الديازونيوم .

لقد ترددت كثيرا فى ان اضمن هذا الموضوع خطوات انشاء المنحنى القياسى للمبيد بالطرق المختلفة واثرت فى النهاية ان اتناولها بالرغم من ان هذا الجزء ما زال يتناول متطلبات ما قبل التحليل حتى يستطيع الباحث المبتدئ ان يلم بالمعلومات الاساسية ويقف على اول خطوات التحليل .

بالرغم من ان قائمة المراجع قديمة جدا ولكن الاساسيات تظل اساسيات والمعرفة بها مطلوبة بل ضرورة لذلك سأضمنها هذا الجزء ثم سأضمن الحديث أماكن اخرى ... ارجو المعلقة ولكننى أتصرف بناء على خبرتي فى مجال التحليل .

يجب على مسئول تقدير مخلفات المبيدات ان يلم بالاساليب والاساسيات ويعرف معنى فترة الأمان وهى تختلف من مركب لآخر ومن نبات لآخر وعليه ان يأخذ فى الاعتبار الظروف المناخية والدور الذى يمكن ان تؤثر به على ثبات المخلفات وتحولها الى مركبات اخرى وكذلك تلعب عمليات الفسيل للحضروات دورا فى تحديد كمية مخلفات المبيدات خاصة السطحية ونفس الشئ مع عمليات التجهيز والتصنيع .

لا يجب اغفال مسؤوليات الجهات الحكومية فى التقليل من حدة مشكلة المخلفات ونفس الشئ يقع على عاتق المزارعين .. لذلك لا بد من تعظيم دور الارشاد الزراعى المستنير للتعريف بابعاد مشكلة المخلفات وخطورتها على الصحة العامة .. وسوف نتناول هذه الموضوعات بالتفصيل فيما بعد ...

R E F E R E N C E S قائمة المراجع

- Anderson, C. A., Adams, J. M., and MacDougall, D. (1959). *J. Agr. Food Chem.* 7, 256.
- Averell, P. R., and Norris, M. V. (1948) *Anal. Chem.* 20,753.
- Bann, J. M., (1957). "A Review of Residue analysis Methods for the Determination of Aldrin, Dieldrin, Endrin and Phosdrin Insecticide." Memo. Shell chemical Corp., New York, N. Y.
- Blinn, R. C. (1960). In "Instrumental Methods for the Analysis of Food Additives" (W. H. Butz and H. J. Noebels, eds.), Chap. IX, p. 125. Interscience, New York.
- Blinn, R. C., Gunther, F. A., and Mulla, M.S. (1960). *J. Econ. Entomol.* 53, 1129.
- Bowen, C. V., and Edwards, F. I., Jr. (1950). *Advances in Chem. Ser. No.* 1, 198; *Anal. Chem.* 22, 706.
- Bowman, J. S., Gauditz, I., and Robbins, A. J. (1961). 140th Am. Chem. Soc. Meeting, Chicago, Illinois Sept. 3-8, 1961.
- Carter, R. H., and Hubanks, P. E. (1946). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 29, 112.
- Castro, C. E., and Schmitt, R. A. (1962). *J. Agr. Food Chem.* 10, 236.
- Clifford, P. A. (1947). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 30, 337.
- Cook, J. W. (1954). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 37, 561.
- Coulson, D. M., Cavanagh, L. A., deVries, J. E., and Walther, B. (1960). *J. Agr. Food Chem.* 8, 399.
- Craig, L. C., and Craig, D. (1956). In "Separation and Purification" (A. Weissberger, ed.), Part I, Vol. III, pp. 149-332. Interscience, New York.
- Cueto, C., Jr., Barnes, A. G., and Mattson, A. M. (1956). *J. Agr. Food Chem.* 4, 943.
- Davidow, B. (1950). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 33, 130.
- Dewey, J. E. (1958). *J. Agr. Food Chem.* 6, 274.
- Fairing, J. D., and Warrington, H. P. (1950). *Advances in Chem. Ser. No.* 1, 260.

- Fallscheer, H. O., and Cook, J. W. (1956). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 39, 691.
- Fukuto, T. R., dMetcalf, R. L., march, R. B., and maxon, M. G. (1955). *J. Econ. Entomol.* 48, 347.
- Glang, P.A., and Hall, S. A. (1951). *Anal. Chem.* 23, 1830.
- Gunther, F.A., and Blinn, R. C. (1950). *Advances in Chem. Ser. No. 1*, 72.
- Gunther, F.A., and Blinn, R. C. (1953). *J. Agr. Food Chem.* I, 325.
- Gunther, F.A., and Blinn, R. C. (1955). In *sd"Analysis of Insecticides and Acaricides"* (Gunther and Blinn, eds.), Vol. 6, Chapt. 14, pp. 226-259. Interscience, New York.
- Gunther, F.A., and Blinn, R. C. and Barnes, M.M. (1957). *J. Agr. Food Chem.* 5, 198.
- Gunther, F. A., Blinn, R. C., and Barkley, J. H. (1959). *J. Agr. Food Chem.* 7, 104.
- Hestrin, S. (1949). *J. Biol. Chem.* 180, 249.
- Hornstein, I. (1955). *J. Agr. Food Chem.* 3, 848.
- Hoskins, W. M., and Messengerd, P.S. (1950). *Advances in Chem. Ser. No. 1*, 93.
- Hudy, J. A., and Dunn, C. L. (1957). *J. Agr. Food Chem.* 5, 351.
- Jones, L. R., and Riddick, J.A. (1952). *Anal. Chem.* 24, 569.
- Klein, A. K. (1958). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 41, 551.
- Klein, A. K. (1960). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 43, 703.
- Klein A. K., Laug, E. P., and Sheehan, J. D. (1959). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 42, 539.
- Kolthjoff, I. M., and Kuroda, P. K. (1951). *Anal. Chem.* 23, 1306.
- Lovelock, J. E. (1961), *Anal. Chem.* 33, 162.
- MacDougall, D. (1961). 18th Intern. Congr. Pure and Appl. Chem., Montreal August 7-9, 1961. Section C-3. Paper 15.
- March, R. B., Metcalf, R. L., and Fukuto, T. R. (1954). *J. Agr. Food Chem.* 2, 732.

- March, R. B. Metcalf, R. L., Fukuto, T. R., and Maxon, M. G. (1955). J. Econ. Entomol. 48, 355.
- Metcalf, R. L., March, R. B., Fukuto, T. R., and Maxon, M. G. (1954). J. Econ. Entomol. 47, 1045.
- Metcalf, R. L., March, R. B., Fukuto, T. R., and Maxon, M. G. (1955). J. Econ. Entomol. 48, 364.
- Plapp, F. W., and Casida, J. E. (1958). Anal. Chem. 30, 1622.
- Pollard, G. E. (1957), 131st Am. Chem. Soc. Meeting, Miami, Florida April 7-12, 1957.
- Schechter, M. S., and Hornstein, I. (1957). Advances in Pest Control Research I, 353-447.
- Schechter, M. S., and Westlake, W. E. (1962). Anal. Chem. 34, 25 A.
- Schmitt, R. A., and Zweig, G. (1961). 140th Am. Chem. Soc. Meeting, Chicago, Illinois.
- Sun, Y. P. (1957). Advances in Pest Control Research I, 449-496.
- Van Middelem, C. H., Waites, R. E., and Wilson, J. W. (1963). J. Agr. Food Chem. 11, 56.
- Walker, K. C. (1960). U.S. Dept. Agr. Dept. No PCY-60-6.
- Warshowsky, B., and Schantz, E. J. (1950). Anal. Chem. 22, 460.
- Zweig, G., Archer, T. E., and Rubenstein, D. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 403.

الفصل الثالث

ارشادات ودلائل تقييم اداء طرق تحليل المبيدات من خلال الدراسات المشتركة
في مركز سيباك Cipac .

- * مقدمة Introduction
- * هدف دلائل ووثيقة CIPAC في تحليل المبيدات .
- * اختيار الطرق للدراسات المنسقة والمتراصة والمشاركة Choice
- * التجارب والاختبارات الأولية Pilot trial
- * التجربة المشتركة الكاملة Full collaborative trial
- * تحديد وتطوير المعامل Recruitment of laboratories
- * التحضير والتجهيز للتجربة المشتركة Preparation
- * تعليمات عن اداء التحليل Instructions for the performance of the analysis
- * توزيع العينات Dispatch of samples
- * التحليل الاحصائي للنتائج Statistical treatment of results
- الحسابات الأولية Preliminary calculations
- حساب r التكرارية R , repeatability دوام اعطاء نفس النتائج Reproducibility
- العلاقة الوظيفية بين r (أو R) و x
- تقييم نتائج التحليل الاحصائي Evaluation of the statistical results
- * تمثيل بيانات الدقة Presentation of precision data
- * استخدام بيانات الدقة Utilization of precision data
- * قبول R, r Acceptability of R, r
- * التقرير النهائي Final report
- * تذييل .
- * المراجع References

★ ★ إرشادات ودلائل تقييم اداء طرق تحليل المبيدات من خلال الدراسات المشتركة في مركز سيباك Cipac .

* * *

* مقدمة Introduction :

ما دعاني الى كتابة هذا الموضوع ايماني بأن كثير من زملاء البحث لا يعلمون الا اليسير عن هيئة السيباك « CIPAC » التي تعنى بوضع الطرق القياسية لتحليل المبيدات وهذا الاختصار معناه "Collaborative international pesticides analytical council limited" اللجنة الدولية المحدودة المشتركة لتحليل المبيدات ... ويتبعها اللجنة الدولية لطرق تحليل المبيدات CIMAP Commission Internationale des méthodes d'analyse des pesticides

والعلامة المميزة للهيئة واللجنة على النحو التالي :



وقد اعدت هذه الورقة بناء على طلب رابطة « GIFAB » وهي اختصار المجموعة الدولية للروابط القومية لصناعات المنتجات الزراعية اعدت من اجل بواسطة :

P. Baker (ICI Agrochemicals, Yalding, Kent, England),

N.C. Franklin and K. Pavel (Bayer AG, Pflanzerschutz,

Leverkusen, Fed. Rep. of Germany).

" International Group of national Associations of Manufacturers of Agrochemical Products"

وفى هذا المقام اود الاشارة الى قيام واتشاء هيئة مصرية تضطلع بمسئولية التوعية بمخاطر المبيدات تضم بين عضويتها معظم الشركات العالمية وممثليها فى مصر واساتذة جامعات وممثلى وزارة الزراعة المصرية والمعمل المركزى للمبيدات والمضوية مفتوحة امام اى مشتغل فى مجال المبيدات ومكافحة الآفات وكذلك هيئات القطاع الخاص ومثلى التجار والموزعين ومصانع المستحضرات الحكومية والأهلية .

ونأمل ان تجتذ الجمعية دورا للتعاون وتلقى الاسهامات المادية والمعنوية من جهاز شئون البيئة المصرى وغيرها من الهيئات المماثلة الدولية . يمكن الرجوع لهذه الجمعية عند حدوث منازعات بين الشركات وبعضها أو بينها وبين وزارة الزراعة والهدف واحد ألا وهو حماية الانسان والبيئة المصرية من خطر واضرار هذه السموم وترشيد استخدامها بأسلوب آمن وفعال .

من المؤسف ان هذه الجمعية المعنية مباشرة بامور المبيدات واطارها البيئية تلقى مقاومة شديدة وغير شريفة من عناصر كثيرة لا تتسم بالمسؤولية هدفها افشال دورها المطلوب تحقيقا لأهواء شخصية ولا سبيل الا بتخليص هذه المهنة من الدخلاء والغير مقدرين لخطورتها . لذلك كان من الضروري ان اضع امام القارئ الكريم معلومات كافية عن الجمعية المصرية للمنتجين والمشتغلين والمتعاملين مع المبيدات فى مصر ...

فى الاجتماعات التمهيدية والتحضيرية لتأسيس هذه الجمعية طرحت العديد من التصورات وبناء عليها تم تحديد مبدئى للغرض من انشاء الجمعية والاهداف المرجوة منها على النحو التالى :

العمل على تشجيع الانتاج الامثل للاغذية والالياف من خلال خلق الحماية المناسبة للمحاصيل التى تعالج بالكيماويات الزراعية .

* زيادة الوعي العام والخاص للمشتغلين والمتعاملين والمستهلكين للكيماويات الزراعية .

* التنظيم والتنسيق والدفاع عن المصالح المشتركة لعضائها العاملين فى مجال الكيماويات الزراعية وحمايتهم .

* وضع الاسس والقواعد العلمية والفعلية ونقل الخبرات المتاحة فى عالمنا المعاصر لنهج افضل السبل فى انتاج ونقل وتعبئة وانتقال الكيماويات الزراعية بصورة امنة ودقيقة وعلمية بما يكفل حماية الانتاج الزراعى بصفة عامة ووفقا للقوانين واللوائح والنظم الوطنية والمعايير الدولية .

* نشر الوعي على تفهم طبيعة الكيماويات الزراعية وضرورت استخدامها وافضل طرق الاستعمال لتنمية الثروة الزراعية والتصدى للممارسات المخاطفة وغير القانونية والمخطورة فى مجال الانتاج والتداول والاستعمال للكيماويات الزراعية .

* المساهمة وتقديم المعونة المادية والفنية لتدريب المهتمين والمتعاملين بالكيماويات الزراعية بغرض حماية وتنمية الثروة الزراعية .

* احترام حقوق الملكية الصناعية وبراءات الاختراع محليا ودوليا فى مجال الكيماويات الزراعية من اجل استمرارية التقدم العلمى .

بعد عدة اجتماعات تبلورت الفكرة وتم التأسيس واخذت الجمعية الاسم الرسمى والوثائق وتكون مجلس الادارة .

الجمعية المصرية
للمنتجين والمشتغلين بالكيمائيات الزراعية

« إيبا »

"EAAPA"

المشهرة بوزارة الشؤون الاجتماعية

تحت رقم ٣٩٨١ لسنة ١٩٩٣

العنوان : ٣٧ شارع قصر النيل - القاهرة - الدور الثالث - شقة ٢٣ - تليفون : ٣٩٢٢١٢٣- ٣٩٢٤٣١٠

المعضوية :

- جميع ممثلى الشركات العالمية فى مصر والمهتمة بهذا المجال وبأشخاصهم الطبيعية (مؤسسين)
- ممثلى المنتجين المحليين (مبيدات) باسمائهم الطبيعية أو الاعتبارية .
- من يرغب من ممثلى الهيئات والوزارات والمشتغلين بالكيمائيات الزراعية .
- من يرغب من اساتذة الجامعات أو المعاهد والعاملين فى نفس المجال .

الغرض من تأسيس الجمعية :

تنظيم ندوات دورية للمناقشات العامة بين الاعضاء حول التداول والاستخدام الآمن
للكيمائيات الزراعية فى مصر مع تعاظم دور القطاع الخاص .

الاهداف العامة :

حماية البيئة والانسان المصرى ... بتحقيق الآتى :

أولا : الاستخدام الامثل للكيمائيات الزراعية وخاصة المبيدات (عن طريق الندوات والنشرات
الدورية والتدريب ... الخ) .

ثانيا : سلامة التداول والتخزين والتخلص من المخلفات (التوعية بكافة الوسائل)

ثالثا : الاعلام الكافى والواضح والمتنم عن الكيمائيات الزراعية (المرئى والمسموع)

رابعا : تبادل المعلومات والخبرات والتدريب بالتعاون مع الجمعيات المحلية والدولية المتخصصة .

* هدف دلائل وثيقة CIPAC في تحليل المبيدات :

تستعرض وثيقة بروتوكول CIPAC الطريقة أو الطرق الواجب اتباعها عند اجراء دراسات متكافئة تبعاً لتعليمات السبياك على الصور النقية والتجارية للمبيدات . تعتمد هذه الوثيقة على المعلومات المتوفرة لدى السبياك من خلال التجارب والتداول الفعلي وهي تشمل التوصيات التي خرجت من اللقاء الذي نظمتها الجمعية الدولية للمبيدات الزراعية IUPAC الخاصة بطرق تحليل المبيدات وسبل التعاون في توصيفها والذي عقد في جنيف بسويسرا في ٤ - ٥ مايو ١٩٨٧ حيث اخذ المجتمعون في الاعتبار اصدار الهيئة الدولية للمواصفات القياسية « ISO » International standard organization رقم ٥٧٢٥ عام ١٩٨٦ والتي اجريت على اساسها طرق التحليل الاحصائي .

هدف كل لجنة من لجان CIPAC الحصول واصدار طرق تحليل مناسبة ذات كفاءة مرضية لكل مبيد من المبيدات الموجودة في المنطقة الخاصة بالهيئة والتي تعضد من خلال الدراسات الدولية المتبعة بين الجهات المختلفة . هذه الطرق تستخدم في الاغراض والمنازعات التجارية وتدعيم المواصفات القومية والدولية للمبيدات .

* اختيار الطرق للدراسات المنسقة والمشاركة :

Choice of methods for collaborative study

تعرف الدراسات المشتركة أو المنسقة على أنها دراسات بين المعامل المختلفة inter-laboratory حيث يقوم كل معمل باستخدام طريقة التحليل المعينة والمتفق عليها لتحليل نسب معينة ومعلومة من مواد متماثلة لتقدير المواصفات التي تسفر عنها طريقة التحليل . وليكن معلوما ان الدراسة المشتركة ما هي الا اختبار اولى للطريقة وليس لتقييم المعمل . لذلك يجب ان تستخدم الطريقة بنفس خطوات التطبيق الفعلي والعملى واى تغيير أو تخوير عن الطريقة يجب ان يذكر ويدون في التقرير لتفسير اية نتائج لا تتماشى مع المعامل الاخرى .

يجب ان يكون مجال اختيار الطريقة محدودا وفي اضيق نطاق وغالبا تكون هناك طريقة واحدة متاحة ومنشورة واجبة الاتباع وقد توجد اكثر من طريقة في المراجع ذات مميزات معينة ومع هذا يجب اتباع نفس الطريقة في المعامل المختلفة . لذلك يفضل ان تتبع الطريقة الموصى بها من قبل الشركات المكتشفة والمصنعة للمبيد منعا لأية صعوبات أو اجتهادات . الطرق المناسبة لتقدير تركيزات اى مركبات كيميائية بما فيها المبيدات يجب ان تحقق المواصفات والنقاط التالية :

١ - إمكانية التطبيق Applicability :

يجب ان تكون الطريقة صالحة لتقدير والكشف عن مدى واسع من المركبات والتركيزات لكل مركب ومن ثم وجب ان تتميز بالتخصص Selectivity والحساسية Sensitivity .

ب - موثوق بها Reliability والدقة Accuracy والاحكام Precision (كلا المياريين يتسما بالتكرارية واعطاء نفس النتيجة عند التكرار Repeatability & reproducibility ويجب ان يحققا القبول .

ج - التنفيذ العملي Practicability يجب ان تحقق الطريقة السرعة وقلة التكلفة كما يجب ان تعتمد الطريقة على الجواهر الكشفية والاجهزة المتاحة كما تحقق الأمان عند التداول والتنفيذ بواسطة المدربين والمعاملون .

لا يوجد دائما طريقة واحدة يمكنها تحليل عينات المبيدات النقية والمستحضرات التجارية . وفي هذه الحالة يجب فصل المستحضرات وتحليلها بطريقة اخرى . اذا كانت طريقة واحدة تكفى وتغطي نتائج تحليل مرضية كان من الضروري على مسئول التحليل الحصول على معلومات اضافية قبل اجراء اى خطوات معملية داخلية . الدراسات المشتركة تتطلب مجهودات كبيرة وتستخدم فقط للطرق التي درست تفصيليا من قبل وهي تشمل تحديد وتقدير الانحراف الكلى لنتائج التحليل المعروفة والمتوقعة بين المعامل المختلفة Laboratory standard deviation وداخل المعمل نفسه . بالاضافة الى ذلك يجب الحصول على المعلومات الخاصة بالاطء التقليدية التي تحدث فى المعمل أو المعامل .

* الاختبارات الأولية والمسبقة للتحليل المشترك ... يجب ان تشمل على النقاط التالية ما أمكن :

١ - مقدرة الطريقة على قياس الصور الطبيعية والكيميائية لمادة التحليل بنفس المقدرة لهذه المواد المنفردة .

٢ - تأثير المواد الأخرى الشائع وجودها بتركيزات معتبرة فى النواتج والتي يمكن ان تتداخل مع طريقة التحليل .

٣ - التأكد من نتائج التحليل للطريقة على المواد القياسية .

٤ - تحديد معدل استرجاع المادة الخلقة المجهزة خصيصا والمحتوية على كميات معلومة من مادة التحليل .

٥ - مقارنة نتائج التحليل بالطريقة محل الدراسة مع الطرق الاخرى المتوفرة على نفس المواد .

٦ - يجب الا تسبب الخطوات الموصفة والمعايرة والتصحيح بالعينة الخالية من مادة التحليل Blank اية تغيرات أو تجهيزات معنوية .

٧ - قسوة وصرامة الطريقة يجب ان تختبر وتقيم بواسطة المعمل الاصلى لذلك يجب الرجوع الى الطريقة المنشورة فى كتاب JAOAC عام ١٩٨٨ (التقرير النهائى الرابع) . المرجع رقم (٣) بعد ذلك يجب كتابة وتدوين الطريقة بوضوح وبدون غموض بناء على الاعتبارات الواردة فى دليل

المواصفات القياسية ISO Guide 18-1978 d(E) كما فى المرجع رقم (٤) . وفى العادة تكون جميع المعلومات المتاحة عن الطريقة مسئولية كاملة للمعمل الاصلى أو منسق مثل هذه الدراسات . اذا لم يكن هناك معمل محدد مسئول عن طريقة التحليل يقوم رئيس مجموعة العمل على المستوى القومى او الدولى بتحديد منسق عام للطريقة فى هذه المرحلة الاولى يضطلع بمسؤوليات التجارب المسبقة المشار اليها أعلاه .

* التجارب والاختبارات الأولية Pilot trial :

قبل البدء فى اجراء تجارب حتى ولو كانت على المستوى الصغير ينصح بالتشاور مع الفرق والهيئات الاخرى للتأكد من القبول المشترك للطريقة المقترحة . اذا تأكد من قبول الطريقة تجرى تجربة أولية تشمل ثلاثة أو أربعة طرق والتي لا يشترط ان تكون جميعها على دراية أو خبرة كاملة عن التنفيذ العملى للطريقة المقترحة . على هذه المعامل ان تتبع خطوات التحليل المتفق عليها ولكن لها حرية اقتراح واجراء اى تحويلات فى الطريقة اذا كانت ستؤدى الى تحسين ملموس فى الكفاءة والدقة . وهذه التحويلات يجب ان ترسل فى تقرير الى المنسق العام للطريقة . ان قصر التجريب على عدد قليل من المشاركين والمعامل يؤدي الى سرعة وسهولة تبادل المعلومات والتشاور عن الصعوبات . من هنا فان الطريقة المقترحة للتجارب المشتركة الكاملة قد تختلف قليلا عن الطريقة الاصلية بسبب الصعوبات أو الآراء أو التحويلات المختلفة .

نتائج هذه الدراسة (التجربة أو التجارب الأولية) قد تستخدم لتحديد وحساب التكرارية وكفاءة الطريقة عند التكرار وهي تعطى دليلا على مطابقة قياسين لنفس العينة وهذا هو المستهدف تحقيقه فى التجربة النهائية والكاملة . من هذه النتائج المتحصل عليها من التجربة الأولية يقوم المنسق العام القومى او الدولى وكذلك اللجان المعنية على المستويات المحلية أو العالمية ان تقرر ما اذا كانت الطريقة مناسبة وتصلح للانتقال الى مرحلة العمل المشترك collaborative . اذا تقرر عدم صلاحية الطريقة للعمل المشترك يجب تقرير امكانية عمل تحويلات modifications أو اختيار طريقة اخرى . كذلك يجب تكرار الطريقة الأولية مع الطريقة الجديدة .

* التجربة المشتركة الكاملة Full collaborative trial

* تحديد وتطويع المعامل Recruitment of laboratories :

تدعى المعامل للمشاركة من خلال الاتصالات المعروفة (مثل استشارة معلومات السيباك CIPAC information sheet التى ترسلها سكرتارية السيباك لهذه المعامل . هذه الاستشارة التى ترسل للمعامل لا تحتوى فقط على اساس الطريقة ولكن وفى حالة الطرق التى تستخدم الاجهزة instrumental methods تعطى المعايير الهامة الواجب اتباعها . كذلك يجب الحصول على تأكيدات من المشاركين القادمين مستقبلاً على استعدادهم وضرورة اتباعهم للطريقة المقترحة فى المستقبل . من الناحية النموذجية يفضل اختيار المعامل التى ستشارك فى التجربة او

التجارب المشتركة عشوائيا من بين المعامل التي ايدت استمدا للمشاركة في التجربة وقبلت جميع الاعتبارات المقترحة ولكن من الناحية العملية وكما سبق القول يجب قصر العمل على عدد محدود من المعامل . اذا كانت الدراسة مخطط لها الاستخدام على النطاق الدولي يجب اشراك المعامل من دول مختلفة . وهذه المعامل التي سيقع عليها الاختيار يجب ان يكون فيها اشخاص ذو خبرة معروفة في طرق التحليل وليس من الضروري ان يكون ذوى خبرة في الطريقة المقترحة .

هناك توصية ألا يقل عدد المعامل المشتركة في التجربة الكاملة عن ٨ معامل . في حالة عدم امكانية توفير هذا العدد يمكن تقليل العدد بشرط ألا يقل عن خمسة معامل وهذا يستتبع زيادة حدود الثقة والدقة confidence limit وقد يقبل قائل بضرورة زيادة عدد المعامل عن ٨ ووصولها الى ١٥ معمل في بعض الاحيان وان كان هذا صحيحا الا ان السيطرة وإدارة مثل هذا العدد الكبير من المعامل من الصعوبة بمكان .

* التحضير والتجهيز للتجربة المشتركة Preparation :

يجب اخذ النقاط التالية في الاعتبار عند وضع برنامج التحليل :

١ - يجب توفر المادة القياسية محل التحليل وهذه يجب الحصول عليها من الشركة المنتجة أو من مصدر متخصص في المواد القياسية (يمكن الحصول على القائمة من مرجع CIPAC D, P 186 FF .

٢ - المستويات التي تستعمل وتختبر في التطبيق العملي يجب ان تختار وتحدد في الطريقة (اما ان تكون مواد فعالة أو ٥٠٠ جم/كجم مركز قابل للاستحلاب ... الخ) .

٣ - بعد اختيار المستويات يجب تحليل عدد من المواد في نطاق هذه المستويات . اذا كان هناك أكثر من صانع يجهز وينتج المادة بنفس المستوى يجب اختيار أكثر من عينة للتحليل . بالإضافة الى ذلك ولكي تختبر صعوبة الطريقة يجب ان توجه الجهود نحو اختيار عينة صعبة . الحد أو العدد الأولي للعينات في تجارب التحليل المشترك يجب الا تقل عن خمسة وهذه يمكن تقليلها الى ثلاثة في حالة ما اذا كانت هناك عينة فردية وذات مستوى واحد من المادة الفعالة فقط في حالة مستحضر واحد أو مادة نقية واحدة .

٤ - يجب اجراء تحليلات مزدوجة في كل معمل Duplicate analysis بمعنى ضرورة اجراء التحليل على عيتين من نفس المستوى على ان توزن وزنة مستقلة من كل عينة وتحلل مرة وتكرر الخطوات مع بعضها مرة اخرى . في حالة التحليلات الكروماتوجرافية تحقن كل عينة مرتان وبذلك نحصل على مجموعتان من النتائج . هذه الحقائق ليست مطلوبة للتحليل الاحصائي حيث تؤخذ متوسطاتها ولكنها تعطي دليلا واضحا ومؤكدا عن كفاءة الكروماتوجرافى كما تعطي المسئول واللجنة القومية أو الدولية معلومات اضافية .

٥ - يجب تحديد الوزن من المادة اللازم لكل معمل .

٦ - معمل واحد فقط غالبا المعمل الرئيسى او منسق عام الدراسة يكون مسئولاً عن تقسيم العينات وتوزيعها . ومن مسئوليات المعمل المنظم لعملية التوزيع التأكد من ان المواد القياسية والعينات متجانسة قبل البدء فى توزيعها . اذا كانت العينات محتاجة للمصهر قبل الاستخدام لا بد ان تتضمن التعليمات التأكيد على ثبات المادة مع عملية الانصهار لن يتأثر . بالنسبة للعينات الصعبة مثل المملقات المركزة وجب بل من الضروري توفر طريقة للتجزئة .

٧ - يمكن ارسال بعض المواد الاضافية لاجراء تجارب اولية على مستوى صغير حتى يتعودوا على النظام الخاص بالتحليل المشترك قبل البدء فى التجربة المشتركة الكلية .

٨ - يجب تحديد قيمة ارجاع او اصدار وارسال النتائج مسبقا .

* تعليمات عن اداء التحليل

Instructions for the performance of the analysis

يجب كتابة الطريقة على استمارة السبيك CIPAC format وعلى المنسق العام التأكد من ان التعليمات الآتية قد اُرسلت الى المعامل :

١ - التعليمات الضرورية للمشتريين فى التحليل والخاصة بالعينات المجزئة (تجزئ العينات) sub-sampling أو تجانس العينات (طحن العينات) homogenization أو تحت العينات أو المواد القياسية .

٢ - اى خطوات خاصة واجبة الاتباع لمعايرة الجهاز قبل الاستخدام (مثل عدد حقنات العينات أو المواد القياسية قبل بداية التحليل بالكروماتوجرافى الغازى وكذلك تحديد ما الذى يجب تكراره فى الحقنات المزدوجة قبل بدء التحليل) .

٣ - تتابع حقن العينات ومعايرة المحاليل وعدد المحاليل القياسية المطلوبة فى الطرق الكروماتوجرافية . بعد برنامج المعايرة وتوازن الجهاز فان تتابع الحقن العادى للطرق الكروماتوجرافية يجب ان يتضمن معايرة (١) ، عينة (أ) ، عينة (ب) .

معايرة (٢) - عينة (ب) ، عينة (ب)

عادة ما تكون المعايرة (١) والمعايرة (٢) منفصلان لذا وجب وزن كل منهما على حدة . ولذلك سنحصل على نتيجتان لكل عينة وكلاهما سيتأرجحان حول المتوسط . المعايرة الأولية تجرى باستخدام أوزان ٠,٥ ، ١ ، ٢ جرام وحدة وزنية من المادة القياسية هذه المعايرة ستوضح خطية العلاقة والاستجابة مع التركيز . المحلول الوسطى فى المعايرة يمكن استخدامه للتأكد من دقة المحاليل القياسية للتجربة المشتركة بما يؤكد عدم حدوث انهيار معنوى .

٤ - ان اى اسئلة تريد المعامل المشتركة فى التحليل الإستفهام عنها للتأكد من ان جميع التفاصيل الخاصة بالتشغيل والظروف خاصة أية تحويرات عن الطريقة الاصلية قد أرسلت .

٥ - المعادلات و / أو الحسابات التى يجب استخدامها لتحويل البيانات المتحصل عليها الى نتائج تضمن التقرير بما فيها معانى الرموز الموجودة فى المعادلات .

٦ - عدد الارقام المعنوية المطلوبة فى النتائج المدونة .

٧ - معلومات خاصة عن تخزين المواد القياسية والعينات والمحاليل القياسية المحضرة وكذلك فترة ثبات المحاليل والجواهر الكشافة أو ما يعرف بفترة التخزين على الرف Shelf life .

٨ - اذا اقتضت الضرورة ما هو الوقت الذى يوقف عنده التحليل او متى ينتقل التحليل الى الخطوة التالية .

٩ - الأمان والأخطار والاحتياطات لا بد ان توصف جيدا .

١٠ - فى التحليل الكروماتوجرافى او الاسبكتروسكوبى او المعايير او أى طريقة اخرى يجب تحديد الظروف الدنيا المقبولة (مثل عدد المنحنيات والفصل والحساسية) . وكذلك كروماتوجرام قياس نموذجى او منحنى العليف او المعايرة ... الخ يجب ان توضع فى طريقة التحليل للاسترشاد بها .

١١ - المعايير الحرجة للطريقة يجب ان توضع معها . اذا كانت هناك معايير اخرى مختلفة يجب توضيحها . وهذه الاختلافات يجب دراستها كلما كان ذلك ممكنا فى المعمل الرئيسى المسئول عن الدراسة المشتركة للتحليل .

١٢ - استمارة كتابة التقرير مطبوعة مسبقا وهذه يجب ان تكون مصممة جيدا بحيث تعطى بيانات كافية عند اكتمالها بما يمكن من مراجعة الحسابات التى اجريت على النتائج .

* توزيع العينات Diskpatch of samples :

عند تجهيز كل ما يتعلق بالدراسة يجب ارسال العينات والوثائق فى طرود منفصلة . ومن الضروري اتباع جميع القواعد الدولية الخاصة بالنقل والتعليم للمبيدات .

* التحليل الاحصائى للنتائج Statistical treatment of results :

التحليل الاحصائى للنتائج يعتمد على الطريقة الموصفة فى (E) ISO 5725-1986 مع امكانية ادخال بعض التعديلات بما يتمشى مع توصيات ورشة عمل IUPAC . عند اكتمال النتائج ووصولها الى اللجنة المنظمة أو المنسق العام يجب جدولتها وتحليلها احصائيا .

** الحسابات الأولية Preliminary calculations :

قبل البدء فى حساب النتائج والتحقق من كفاءة التكرارية وعطاء نفس النتائج عند التكرار

يجب ان تفحص البيانات من وجهة هذه النقاط والاعتبارات :

- البيانات الزائدة Redundant data .. اذا قام احد المعامل باجراء عدد من المكررات اكبر من المطلوب يجب تدوين جميع النتائج . كذلك يجب وضع تفسير من المعمل الرئيسى عن اسباب اجراء هذه الزيادات وى نتائج يجب اخذها فى الاعتبار بسبب دقتها . اذا كانت جميع البيانات صالحة تؤخذ فى الاعتبار للتحليل الاحصائى او تختار اعداد النتائج المطلوبة باستخدام الطريقة العشوائية المتفق عليها .

- البيانات المفقودة Missing data .. فقد تفقد او تضيع بعض النتائج بسبب ضياع العينات او قطاع من التجربة . لذلك يمكن أن تتجاهل الخانات الخالية واذا أدى ذلك الى تقليل عدد المعامل المشتركة فى البرنامج يمكن وضع المتوسط الخاص بقطاع الخانة المفقودة . يقصد بالقطاع او الخانة على إنها النتيجة المتحصل عليها من القياس (١) للعينات والنتائج المتحصل عليها من القياس (٢) من العينة .

- المخرجات outliers .. تمثل المخرجات بعض اجزاء المدخلات الخاصة بنتائج الاختبار الاصلية او فى الجداول المشتقة منها التى تنحرف كثيرا عن غيرها من المدخلات التى تعتبر غير متوافقة معها . التمثيل البياني للنتائج (مرفق - ١) يفيد فى توضيح وتمييز هذه البيانات المنحرفة وفحص البيانات يوضح ما اذا كانت المخرجات ذات معنوية كبيرة . اذا كان هناك شك فان الاختبارات تبعاً لـ Cochran أو Grubbs (مرفق - ٢) يجب ان تستخدم قبل اجراء اية حسابات لاحقة .

يستخدم اختبار التباين الاقصى لكوكران Cochran's maximum variance test واختبار جريس Grubbs (و / أو اختبارات مخرجات جريس المزدوجة) وهنا الاختبار يستخدم فقط مع متوسطات نتائج المعامل وليس لكل القيم الفردية حيث ان هذه القيم لا ترتبط معا أو غير مستقلة وهذه الاختبارات تستخدم مع الخطوات التالية :

* $P > 5\%$ اذا كانت قيمة اختبار كوكران أو / و اختبار جريس اقل من القيمة الحرجة 5% يكون البند مقبولا .

* $1\% > P > 5\%$ اذا كانت قيمة الاختبار تقع بين $1\% - 5\%$ من القيمة الحرجة تكون النتيجة معنوية ويجب وضع علامة مميزة asterisk وبذلك يكون الاختبار معنوى احصائيا .

* $P < 1\%$ اذا كانت قيمة الاختبار اكبر من 1% من القيمة الحرجة يكون المخرج احصائى والاختبار على المعنوية .

P تمثل احتمال القيمة الملاحظة لاحصائية الاختبار .

قيمة 5% ، 1% للكوكران وجريس موجودة ومتاحة فى الجداول (تذييل - ٢) .

فى المرحلة الأولى لتحديد الدقة يتم حساب المتوسط (X) والتكرارية (r) ودوام اعطاء نفس النتائج (R) دون استبعاد اى بيانات أى استخدام البيانات الصحيحة فقط . بعد ذلك يمكن استبعاد المعامل أو البيانات التى لا تتشمل نتائجها مع الاتجاه العام . يجب إيقاف استبعاد المخرجات اذا تم استبعاد ٢٢ ٪ أى ٢ من ٩ معامل .

قبل اتخاذ القرار الاولى لتحديد ما اذا كانت المخرجات التى لا تفسر أو التى لا تتشمل مع الاتجاه العام لابد من الرجوع الى المنسق العام للاختبار وعليه ان يقرر أو يفسر ما اذا كانت هذه المخرجات الشاذة بسبب اخطاء فنية أو حسابية . اذا قبلت او قدمت تفسيرات مقبولة يمكن اعتبار المخرجات حقيقية ويسمح بتصحيحها او تحفظ وتستبعد من التفسيرات . عندما يحدث مخرجات أو بيانات لا تفسر على مستويات مختلفة فى المعمل الواحد يمكن اعتبار المعمل خارج مجموعة العمل وهنا يصبح مقبولا استبعاد بعض النتائج او جميعها . على المنسق العام ان يتشاور مع مسئولى التحليل الاحصائى للاتفاق على نموذج تمثيل البيانات بعد الاستبعاد .

* حساب r (التكرارية) repeatability و R دوام اعطاء نفس النتائج : Reproducibility

يجرى حساب r و R تبعا للطريقة القياسية الدولية المعروفة ISO 5725-1986 بأرجاف ١٤ (المراجع - ٢) . عند حساب النتائج احصائيا من البيانات الموجودة فى التقرير النهائى يجب الاستفادة من جميع امكانيات الحاسب العادى أو الالى « الكمبيوتر » بدون أية تعديلات حتى نهاية التحليل والحصول على الانحرافات القياسية والمتوسطات . اذا كان حساب الانحرافات القياسية سيجرى على خطوات مع تحويل النتائج الوسطية فان عدد الارقام المعنوية التى تدخل فى حسابات المخرجات يجب ان تكون على الاقل ١ + ٢ مرة مثل عدد الارقام الموجودة فى البيانات .

* التكرارية (r) Repeatability :

القيم التى تحتها متوقع ان نحصل على الاختلاف المطلق بين نتائج اختبارين لمركب او عينة واحدة مع نفس الطريقة على مادة اختبار متماثلة تحت نفس الظروف (نفس القوائم بالتشغيل - نفس الجهاز - نفس المعمل - وقت قصير) مع درجة احتمالات خاصة (٩٥ ٪ الا اذا نص على غير ذلك) .

* دوام الحصول على نفس النتائج (R) Reproducibility :

القيمة التى تحتها نحصل على القيمة المطلقة للاختلاف بين إختبارين فرديين مع نفس الطريقة وعلى مادة اختبار متماثلة تحت ظروف مختلفة (افراد مختلفين - اجهزة مختلفة - معامل مختلفة أو / وأوقات مختلفة) والتى يحتمل او يتوقع حدوثها على نسبة احتمالات ٩٥ ٪ الا اذا نص على غير ذلك .

المقصود نتيجة الاختبار الفردى القيمة المتحصل عليها من استخدام طريقة الاختبار الكاملة مرة واحدة على عينة فردية وربما تكون متوسط اثنين أو أكثر من الملاحظات . يجب حساب المتوسط (\bar{x}) مع r ، R لكل عينة .

* العلاقة الوظيفية بين r (أو R) و \bar{x} :

Functional relationship between r , (or R) and \bar{x}

وصف الاصدار الخاص بالمواصفات القياسية الدولية ISO 5725 عدد من الخطوات لتقدير العلاقة الوظيفية بين التكرارية r والدوام R والمتوسط \bar{x} . فى طريقة السيبك CIPAC تكون المواد مشمول الدراسة ذات تركيب مختلف وتنتج من خلال عمليات انتاج مختلفة ولذلك لا توجد علاقة مؤكدة . البديل عن ايجاد هذه العلاقة هو حساب ارقام منفصلة لكل من r ، R لكل مادة قيد البحث . الاتجاه الاخير مع ما يجرى عمليا موصى به .

تقييم نتائج التحليل الاحصائى : Evaluation of the statistical results

* تمثيل بيانات الدقة : Presentation of precision data

- بمجرد الحصول على التقرير الكامل عن العلاقات الاحصائية للنتائج تقوم الهيئة القومية أو مسئول التجربة المشتركة باتخاذ القرارات التى تجيب عن التساؤلات التالية :
- هل هناك نتائج متعارضة بسبب اى قصور فى وصف الطريقة ؟
- ما هى الإجراءات التى قد تتخذ من المعامل التى رفضت نتائجها ؟
- هل النتائج تحقق الحصول على القيم النهائية r ، R ؟
- اذا كان ذلك ممكنا ما هى القيم النهائية هذه ؟ ما هو المدى الذى من خلاله تستخدم بيانات الدقة ؟

توصى منظمة ISO النشر فى صورة جدولية كالاتى :

R	r	المدى أو المستوى
.....	من الى
.....	من الى
.....	من الى

كما توصى بوضع العلامات تحت الجدول على النحو التالى :

البيانات الخاصة بالدقة قدرت من التجربة التى اجريت عام فى (.....) معامل

وعند (.....) مستوى ٤ .

*** استخدام بيانات الدقة : Utilization of precision data :**

في البداية تقرر استخدام r و R كمعايير لتقدير ما اذا كان الخلاف بين نتائج اختبارين فردين يمكن وصفه بالمتغيرات العشوائية . الاختلاف الأكبر من r أو R مشكوك فيه ولكنه قد يعضد الاستنتاج بان هناك اختلاف معين بين نتائج الاختبارين أو يؤيد فكرة اجراء دراسات اضافية . لذلك قد يطلق على r ، R الاختلافات الحرجة critical differences . وهي تستخدم لنموذج من نتائج الاختبار على التوالي والمتحصل عليها تحت ظروف التكرارية واعطاء نفس النتائج مع تكرار التجريب .

في بعض الاحيان يكون من الضروري مقارنة متوسطات اثنين أو اكثر من الاختبارات أو المقارنة متوسطات السلاسل ذات القيم المعينة وفي هذه الحالات يمكن ان تشتق الاختلافات الحرجة من r و R كما ذكر وشرح في تقرير ISO 5725 عام ١٩٨٦ الباراجراف ١٠٢٠١٩ الى ٤٠٢٠١٩ .

تحسب المعايير r ، R مع احتمالات المستوى ٩٥ ٪ اذا كانت هذه المعايير في حاجة للتقدير عند مستويات احتمالات مختلفة قد تستخدم الطريقة في ISO 5725 ١٩٨٦ باراجراف ١٠١٠١٩ . في هذه الحالات يجب الاشارة الى مستويات الاحتمال بعلامة مميزة ومثال ذلك r 99 أو R 90 .

*** يمكن استخدام الاختلافات الحرجة r و R بطرق مختلفة مثل :**

- لمقارنة نتائج الاختبار المتحصل عليها لقطعة من المركب مع مواصفات هذا المركب القياسية المعروفة .
- لمقارنة نتائج الاختبار المتحصل عليها من المورد والمستهلك على نفس قطعة المركب .
- لتصميم ووضع خطوات وطرق اختبارات الجودة .

اذا اجري اختبار مفرد في معمل المستهلك يجب الا تختلف قيمة الاختبار مع القيمة التي حددها الصانع بمقدار لا يزيد عن ٧٠٧ و R مرة في كل ٢٠ حالة في المتوسط (باراجراف ٣٠٢٠١٩) . اذا قام المعمل بعمل التحليل كله في ازواج فان الاختلاف بين القيم المتحصل عليها والقيمة التي حددها الصانع يجب الا تزيد : $r^2 - 0.5 - \sqrt{R^2} 0.707$ مرة كل ٢٠ حالة

في المتوسط و (٢, ٠ بارجراف ٣٠٢٠١٩) وقد تستخدم في تقدير وتحديد الحد الأدنى المقبول minimum tolerance الذي يعلن في إصدارات مواصفات منظمة الأغذية والزراعة FAO .

* قبول R , r : Acceptability R

لا بد ان يشعر الجميع خاصة المنسق العام أو اللجنة القومية بالارتياح من ملاءمة وموضوعية الأرقام النهائية للتكرارية (r) وإعطاء نفس النتائج عند التكرار (R) اعتمادا على الظروف الفردية . اذا لم يكن هناك طريقة أخرى ورأت اللجنة أو الهيئة ان هناك فرصة قليلة لتقليل معنوية R و r من خلال دراسات وتجارب مشتركة لاحقة فان النتائج تعامل على انها حقيقة مؤكدة عن امكانيات التجربة . وهذه يمكن ان توضع في اى تقارير خاصة بالمواصفات القياسية specifications .

سواء كان الاقتراب البديل لتقدير ما اذا كانت طريقة التقدير مقبولة أم لا لمقارنة دوام الحصول على نفس الانحراف القياسى النسبى لنتائج الدراسة Relative standard

مع العلاقة الخطية بين لوغاريتم القاعدة - ١ للانحراف القياسى المحسوب RSD (EXP) deviation

ولوغاريتم تركيز المادة محل التحليل معبر عنها برقم عشرى (RSD_R (calc ...))

دالة هذه العلاقة يحصل عليها من منحني Horwitz :

$$RSD_R \text{ (calc ...)} \% = 2 (1 - 0.5 \log c)$$

حيث c = تركيز المادة محل التحليل كرقم عشرى (مثال ذلك تركيز ١٠٠ % فان $c = ١$) اذا كانت RSD (EXP) كما قدرت من الدراسة الخاصة بالتجربة المشتركة لا تزيد عن RSD_R (calc ..) للتركيز المعين تكون الطريقة مقبولة . يمكن حساب الانحراف القياس النسبى لدوام الحصول على نفس النتائج RSD_R (EXP) من قيم (R) باستخدام المعادلة التالية :

$$RSD \text{ (EXP)} = \frac{R \times 100}{2.8 \times \bar{x}}$$

حيث أن R نفسها قد حسبت تبعاً لاصدار ISO 5725 عام ١٩٨٦ ، \bar{x} تساوى متوسط تركيز مادة التحليل % .

* التقرير النهائي Final report :

طريقة التحليل وأى وثائق مرتبطة بها يمكن ان تكتب فى الصورة النهائية والتقرير النهائى يجب ان يجمع موضحا ومحتويا على نتائج الدراسة وتوصيات اللجنة المسؤولة . اذا كان التقرير مقبولا يرسل الى CIPAC للتقييم النهائى .

* تذييل :

١ - تمثيل بيانى للنتائج .

٢ - مخرجات الاختبارات تبعا لطريقة جريس Grubbs

المراجع References

- (1) IUPAC Recommendations on the harmonization of Collaborative Analytical Studies, Geneva, Switzerland, (1987).
- (2) International Standard ISO 5725-1986 (E). Precision of test methods - Determination of repeatability and reproducibility by inter-laboratory tests. Second edition.
- (3) JAOAC, 71, 161, (1988), 4th final Draft.
- (4) ISO - kGuide 18 - 1978 (E) Layout for a standard method of chemical analysis.
- (5) F.E. Grubbs and G.Beck, Technometrics, 14, (1972), 847.
- (6) W. Horwitz, Anal. Chem., 54, (1982), 67A.
- (7) K. W. Boyer, W. horwitz, R. albert, Anal. Chem., 57, (1985), 454.

This document was originally formulated as CIPAC 3092 by Mr. D.S. Farrington, MAFF, Starcross, Devon, England, and revised as CIPAC 3426 by Mr. P. Baker, ICI, Yalding, Kent, England.

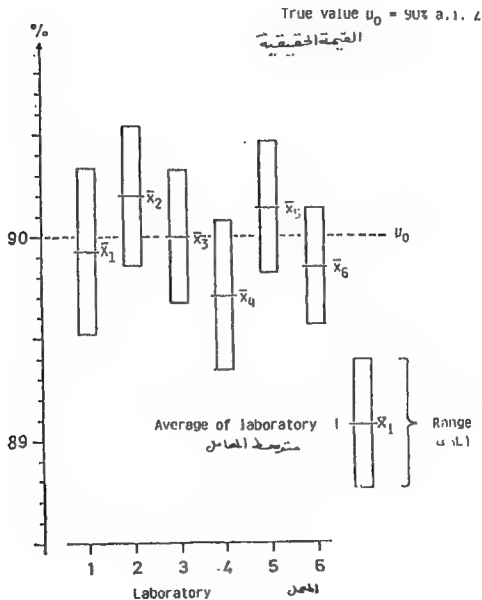
Mr. P. Bakekr, ICI, Yalding, kent, England, Dr. N.C. Franklin and Dr. K. pavel, Bayer AG, Leverkusen, West Germany, prepared the final version submitted to CIPAC in May 1989.

APPENDIX 1

تدليل (١)

GRAPHICAL PRESENTATION OF RESULTS

التمثيل البياني للنتائج



APPENDIX 2

تذليل (٢)

The Outlier Tests according to Grubbs (5)

1 - Calculation of the Test Value r'' lower and r'' upper

Arrange the individual laboratory averages x_i in ascending order :

$x_{(1)}$ = smallest laboratory value.

$x_{(n)}$ = largest laboratory value.

Calculate the total mean, \bar{x} and standard deviation, s .

Calculate the difference between :

the total mean and the smallest laboratory average value

$$= \bar{x} - x_{(1)} \quad \text{and}$$

the total mean and the largest laboratory average value

$$= x_{(n)} - \bar{x}$$

Compare the two differences, and with the largest difference calculate :

$$r'' \text{ lower} = \frac{\bar{x} - x_{(1)}}{s}$$

$$r'' \text{ upper} = \frac{x_{(n)} - \bar{x}}{s}$$

These test values r'' lower or r'' upper are compared with the corresponding tabulated critical values $r_{\alpha, n}$ d (see Tables).

2 - Evaluation

If

$$r'' \text{ lower} > r_{\alpha, n}$$

or

$$r'' \text{ upper} > r_{\alpha, n}$$

Then the extreme value checked, $x_{(1)}$ or $x_{(n)}$ is an outlier at a probability value of α . It is recommended that a probability value of $\alpha = 0.01$ should be taken for the testing of the total values.

Table

Critical values $r_{\alpha; n}$ for the Grubbs outlier test.

Two - sided test					
n	a	0.10	0.05	0.20	0.01
-	3	1.153	1.155	1.155	1.555
	4	1.463	1.481	1.492	1.496
	5	1.672	1.715	1.749	1.764
-	6	1.822	1.887	1.944	1.973
	7	1.938	2.020	2.097	2.139
	8	2.032	2.126	2.221	2.274
	9	2.110	2.215	2.323	2.387
	10	2.176	2.290	2.410	2.482
	11	2.234	2.355	2.485	2.564
	12	2.285	2.412	2.550	2.636
	13	2.331	2.462	2.607	2.699
	14	2.371	2.507	2.659	2.755
	15	2.409	2.594	2.705	2.806
	16	2.443	2.585	2.747	2.852
	17	2.475	2.620	2.785	2.894
	18	2.504	2.651	2.821	2.932
	19	2.532	2.681	2.854	2.968
	20	2.577	2.709	2.884	3.001
	21	2.580	2.733	2.912	3.031
	22	2.603	2.758	2.939	3.060
	23	2.624	2.781	2.963	3.087
	24	2.644	2.802	2.987	3.112
	25	2.663	2.822	3.009	3.135
	26	2.681	2.841	3.029	3.157
	27	2.698	2.859	3.049	3.178
	28	2.714	2.876	3.068	3.199
	29	2.730	2.393	3.085	3.218
	30	2.745	2.908	3.103	3.236
n	$\alpha/2$	0.05	0.052	0.01	0.005

One - sided test

Modified table according to F.E. Grubbs and G. Beck Technometrics vol. 14 (1972) pp. 847 et seq.

Table (continued)

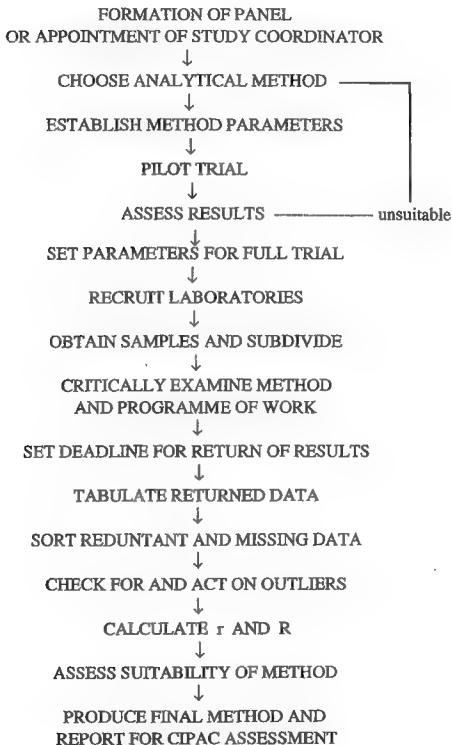
Critical values $r_{\alpha; n}$ for the Grubbs outlier test.

Two - sided test					
n	a	0.10	0.05	0.20	0.01
31		2.759	2.924	3.119	3.253
32		2.773	2.938	3.135	3.270
33		2.786	2.952	3.150	3.286
34		2.799	2.965	3.164	3.301
35		2.811	2.979	3.178	3.316
36		2.823	2.991	3.191	3.330
37		2.835	3.003	3.204	3.343
38		2.846	3.014	3.216	3.356
39		2.857	3.025	3.228	3.369
40		2.866	3.036	3.240	3.381
42		2.887	3.057	3.261	3.404
44		2.905	3.075	3.282	3.425
46		2.923	3.094	3.302	3.445
48		2.940	3.111	3.319	3.464
50		2.956	3.128	3.336	3.483
52		2.971	3.143	3.353	3.500
54		2.986	3.158	3.368	3.516
56		3.000	3.172	3.383	3.531
58		3.013	3.186	3.397	3.546
60		3.025	3.199	3.411	3.560
65		3.055	3.230	3.442	3.592
70		3.082	3.257	3.471	3.622
75		3.107	3.282	3.496	3.648
80		3.130	3.305	3.521	3.673
85		3.151	3.327	3.543	3.695
90		3.171	3.347	3.563	3.716
95		3.189	3.365	3.582	3.736
100		3.207	3.383	3.600	3.754
n	$\alpha/2$	0.05	0.052	0.01	0.005

One - sided test

Modified table according to F.E. Grubbs and G. Beck Technometrics vol. 14 (1972) pp. 847 et seq.

CIPAC COLLABORATIVE STUDY PROTOCOL



الفصل الرابع

– الجيفاب ومخلفات مبيدات الآفات في الماء

Gifap position paper on pesticide residues in water.

* مقدمة Introduction

* الحصر الاستكشافي Monitoring surveys

* تقييم الاخطار الصحية Assessment of health risks

* تقييم المخاطر البيئية Environmental risk assessment

* العمليات الزراعية الجيدة Good agricultural practices

* التوصيات Recommendations

الجفاف ومخلفات مبيدات الآفات في الماء

GIFAP position paper on pesticide residues in water

* مقدمة Introduction :

تلعب المبيدات دورا هاما في انتاج الغذاء والالياف ولتحقيق هدف هذه المركبات تستخدم بشكل متخصص في الزراعة . ولقد اوضحت التجارب ان كميات صغيرة من المبيدات قد تجدد طريقها الى المصادر المائية من جراء انجراف قطرات الرش وجريان الماء وحركتها الى المياه الارضية والجوفية وقد تصل المبيدات الى المصادر المائية من جراء التلوث العرضي الناجم عن سوء التطبيق والقاء بقايا المبيدات في المياه ... الخ .

هناك معيارين لعلاقة المبيدات في الماء وعامة الناس الأول يتمثل في الاخطار الصحية لمخلفات المبيدات في ماء الرش والثاني يتمثل في تأثير المبيدات على الأحياء المائية . للوقوف على حقيقة الموضوع يجب الحصول على معلومات عن تركيز كل مركب على حدة في المصادر المائية (من خلال الحصر الاستكشافي monitoring surveys والسمية الاساسية لهذه المبيدات على الانسان والكائنات المائية) خاصة السمك واللافقاريات والطحالب . لحسن الحظ ان غالبية المبيدات موجود عنها بيانات كافية لعمل تقييم مخاطرها الصحية والبيئية بما يمكن من تخطيط برامج مستترة لتجفيف المشكلة وتقليل الاخطار .

* الحصر الاستكشافي Monitoring surveys :

فى السنوات الأخيرة اضطلعت العديد من الهيئات بمهمة ومسؤولية استكشاف وجود الكيماويات فى الماء السطحي والارضى مع اخذ موقف مصادر مياه الشرب فى الاعتبار . لخطورة هذه الدراسات يجرى استكشاف المبيد بواسطة الوكالات الحكومية وموردى المياه وصانعى الكيماويات الزراعية فى مختلف مناطق العالم خاصة شمال امريكا واوروبا الغربية . تجرى هذه الدراسات فى البلدان ذات الزراعات الكثيفة وكذلك فى المناطق التى فيها طوبوغرافية ارضية تسمح بحركة المياه الملوثة بالمبيدات الى مصادر المياه الارضية .

تتطلب دراسات الاستكشاف هذه تطوير طرق تحليل عالية الحساسية والتخصص الفائق لتقدير آثار المبيدات فى الماء فى حدود تركيزات ٠,١ لىتر / ميكروجرام (جزء فى البليون) . لقد اوضحت نتائج الاستكشاف عدم وجود المبيدات فى معظم العينات التى حلتل ومثال ذلك ما حدث فى المانيا عام ١٩٨٦ حيث تم تحليل ١٣,٠٠٠ عينة مياه من ٢٠٦ بئر وقد وجد ان اقل من ٠,٥ ٪ تحتوي مبيد أو أكثر اعلى فى التركيز من ٠,١ ميكروجرام / لتر (جزء فى البليون) . ولقد تحصل على نفس النتيجة فى المياه الارضية والسطحية فى فرنسا والولايات المتحدة الامريكية وسويسرا ، كما لوحظت اختلافات فى العينات المجموعة من المنطقة أو البلد الواحدة .

يمكن القول بصفة عامة ان المبيدات لا تصل للمياه الارضية على مستويات اعلى من ١,٠ ميكروجرام / لتر اذا ما استخدمت تبعاً للتوصيات مع اتباع الطرق المناسبة للتطبيق المناسب بناء على التعليمات . اذا اجتمعت ظروف معينة مثل التربة الغير متماسكة وجداول مياه ضحلة واستخدامات مباشرة للمبيدات فى المياه تزيد من احتمالات تواجد آثار من المبيدات فى الماء الجوفى خاصة مع المبيدات عالية الذوبان .

* تقييم الاخطار الصحية Assessment of health risks :

اظهر الكشف عن آثار المبيدات فى المياه سواء من خلال التواجد العرضى الطبيعى أو المتعمد عدم حدوث ضرر بالضرورة على صحة الانسان . كما سبق القول يجب ان يؤخذ فى الإعتبار انسمية المبيد وتركيزه فى الماء عند تقييم المخاطر على صحة الانسان . لتسجيل اى مبيد تجرى دراسات مكثفة عن الأمان ويشترط ان تقدم الشركة المنتجة جميع البيانات الخاصة بالسمية . بسبب وجود اختلافات فى التأثيرات التوكسيكولوجية بين المركبات ذات التركيبات الكيميائية المختلفة لذلك وجب تقييم المخاطر لكل مبيد على حدة وحالة بحالة كما هو متبع مع مخلفات المبيدات فى الغذاء . تضطلع العديد من الوكالات مثل منظمة الصحة العالمية (WHO) ووكالة حماية البيئة الامريكية (EPA) وتحدد السمية النوعية لكل مركب . والعديد من الجهات الرسمية المسؤولة عن سلامة المياه تحدد حدوداً ضئيلة جداً لتواجد المبيدات والا كانت المياه غير صالحة للاستهلاك الآدمى . ومثال ذلك ادارة مياه الشرب فى دول الكومنولث DRINKING WATER DIRECTIVE بالقانون EC D(80/778/EEC) التى تنص على عدم السماح بتواجد اى مبيد عند مستوى اعلى من ١,٠ ميكروجرام لكل لتر ماء كما ان التركيز الكلى لجميع انواع المبيدات فى الماء يجب الا تزيد عن ٠,٥ ميكروجرام / لتر . تغطي هذه التعليمات والحدود مدى واسع من المواد اذا كانت مقسمة الى مجموعات الا ان بعض الكيمائيات ذات حدود معينة تختلف عن بعضها البعض ومثال ذلك الزئبق ١,٠ ميكروجرام / لتر ، الكاديوم ٥ ميكروجرام / لتر ، الزنك ٥٠ ميكروجرام / لتر ، السيانيد ٥٠ ميكروجرام / لتر بناء على السمية المميزة لكل منها . يعتقد مسئولى الجفاف بضرورة معاملة كل مبيد على حدة وليس كمجاميع مع بعضها . منظمة الصحة العالمية WHO وضعت حدود للتناول اليومي المقبول Acceptable daily in- (ADI) take للمبيدات فى مياه الشرب وقد وضعت الجفاف دليل لمياه الشرب والمبيدات بناء على حد التناول اليومي يتفق لحد كبير مع WHO و ADI يعنى التناول اليومي المقبول من المبيد الذى يمكن تناوله يومياً بواسطة شخص طوال فترة حياته بدون حدوث اى ضرر بناء على جميع الحقائق المؤكدة والمعروفة .

تقييم الاخطار البيئية Environmental risk assessment :

كما هو الحال مع الاخطار الصحية يجب اجراء سلاسل من الدراسات البيئية واستكمالها قبل التوصية باستخدام المبيد وهذه تشمل الذوبان فى الماء والتحرك فى الانواع المختلفة من الاراضى

ومعدلات الثبات والانهيال في التربة والسمية على الاسماك وغيرها من الكائنات والأحياء المائية . ومثال ذلك تجرى الدراسات على الاحياء المائية في البداية في المعمل على انواع مختلفة من الاسماك وغيرها من الكائنات المائية مثل براغيث الماء والطحالب . واذا اقتضت الضرورة تؤخذ قناة مائية أو مستنقع كبير كوحدة اختبار لمحاكاة البيئات المائية الطبيعية مع التأكد من مواصفات طرق الكشف وكذلك تركيز الجهود بقدر الامكان عن التأثيرات على السلاسل الغذائية بداية من الكائنات الدقيقة والمفترسات وحتى الاسماك والطيور التي تفترسها .

من الممكن عمل تنبؤات بناء على مواصفات الكيمياء ومجالات الاستخدام للحصول على معلومات عن مدى امكانية وصول المركب للماء السطحي أو الارضى والتأثيرات التي تحدثها . والمراجع رقم (٤) يوضح اسس الدراسات المعملية والحقلية بناء على تجارب كل مبيد على حدة ودور كل عامل والعوامل المشتركة معا وهذا ضروري الاجراء قبل التوصية بتسجيل المركب . ان عملية تقييم المخاطر الناجمة من المبيدات عملية معقدة وتضطلع الشركات المنتجة للكيميائيات الزراعية بمسؤوليات الحصول على معلومات كافية من جراء الدراسات الخاصة بتحديد اثر العوامل المختلفة على سلوك المبيدات التي تصل للمصادر المائية والعمليات التي تجرى في طبقات التربة العميقة وكذلك المياه الجوفية مع أخذ ما يحدث للمبيدات في الاعتبار . وتتراوح الدراسات من دراسة الاساسيات والتقنيات وحتى الاستكشاف مع التطبيق الفعلي . هذا يمكن اجراؤه من خلال مشاريع مشتركة بين مصانع المياه والحكومات والاكاديميات العلمية .

* العمليات الزراعية الجيدة : Good agricultural practices :

يجب التأكيد على الفرق بين استخدام المبيدات تبعاً لتعليمات العمليات الزراعية الجيدة (GAP) والاستخدام غير المناسب أو التخلص غير المناسب DISPOSAL . بالطبع تكون احتمالات وصول المبيد الى المياه السطحية أو الجوفية كبيرة في حالات الاستخدام الغير مناسبة والمراجع (٤) يوضح القياسات العملية لتحديد نقاط التلوث وعدمه في حالة وجود المبيدات في المياه على مستويات غير مقبولة وجب اخذ طرق ازالة المخلفات والتخلص منها . وهناك طرق متعددة لازالة المبيدات من مياه الشرب وضعتها الجيفاب (المرجع - ٥) .

* التوصيات Recommendations :

١ - تستخدم جميع بيانات السمية « التوكسينولوجي » المتاحة لتقييم معنوية وجود تركيزات المبيدات في مياه الشرب ووضع قيم تناول اليومى المقبولة .

٢ - استمرار المجهودات لتعزيز اجراءات واتباع العمليات الزراعية المناسبة لحماية المصادر المائية من التلوث . هذه تشمل برامج التدريب والتعليم لتداولي وتجار المبيدات والفلاحين وهذه تجرى من خلال برامج ارشادية وتوعية مشتركة مع الهيئات المختلفة .

٣ - استمرار إتاحة طرق التحليل لكل السلطات المستولة عن المياه لتنفيذ برامج الاستكشاف الخاصة بمخلفات المبيدات فى المياه .

٤ - ضرورة اخذ احتمالات تلوث الماء الأرضى عند تسجيل مبيد جديد للتأكيد من استمرار تحقيق الفوائد فى الانتاج الزراعى من جراء استخدام المبيدات .

المراجع

- 1 . Water Quality Monitoring - Site Selection and Sampling procedures for Pesticide Analysis.
 - 2 - World Health Organization. Guidelines for Drinking Water Quality, WHO, Geneva, 1984.
 - 3 - GIFAP Position Paper on the Toxicological Evaluation of Pesticides in Drinking Water (1988).
 - 4 - GIFAP Guide on the Prevention and Reduction of Pesticide Residues in groundwater through Good Agricultural Management Practices (1989).
 - 5 - Removal of pesticides from Drinking Water.
- GIFAP Technical Monograph No. 5 (1990).

الفصل الخامس

- تحليل مستحضرات المبيدات وضع الطرق والاختبارات المشتركة

Analysis of pesticide formulations establishment of methods and collaborative testing.

* مواصفات الفاو. FAO specifications.

* الحاجة للدراسات المشتركة Needs for collaborative studies

* الحاجة للتناسق أو التوافق The need for harmonization

* حدود التقدير Limit of detection

* الحساسية Sensitivity

* الدقة Accuracy ■

* الدقة Accuracy ■

* طرق التحليل وحدود السماح Methods of analysis and tolerances

* الملوثات والمشاكل البيئية Contaminants and environmental problems

تحليل مستحضرات المبيدات .. وضع الطرق والاختبارات المشتركة

Analysis of pesticide formulations : establishment of methods and collaborative testing

معظم الاصدارات والنشرات عن تحليل المبيدات تتضمن موقف مخلفات المبيدات وطرق تقديرها . من الناحية العملية يتساوى فى الاهمية تقدير المادة الفعالة فى المركب النقى او المستحضر . فى السنوات الاخيرة ثم اضافة ابعاد جديدة للمشكلة من خلال المتطلبات التشريعية مع ضرورة تحديد ان بعض الملوثات الموجودة فى المنتجات المصنعة قد تحدث اخطار مؤثرة على الانسان والبيئة . من الناحية التطبيقية يجب ربط تصنيع وبيع المبيدات من حيث التعرض لنظام التاكيد من المواصفات والجودة من خلال تقدير المادة الفعالة لأن اى تغير فى محتواها لابد وان يؤثر على اقتصاديات الانتاج واداء المستحضر .

الاعتبار الأول يتمثل فى تحديد نسبة المادة الفعالة Active ingredient content لأن الكفاءة والفعل البيولوجى وكذا معدلات الاستخدام تتوقف على هذه النسبة . تتضمن المواصفات specifications بالاضافة الى محتوى المستحضر من المادة الفعالة A.I. تعريف وتحديد محتوى المبيد من الشوائب اذا كانت مستداخل مع المادة الفعالة أو ستحدث تأثيرات ضارة على النباتات كما فى مادة الباربا - نيتروفينول فى الباراليون أو اذا كانت ستحدث تآكل فى العبوات أو آلات التطبيق أو تزيد من الانهيار الكيميائى كما فى الدايبوكسينات الكلورينية أو النيتروسامينات . لابد ان تحدد المواصفات نوعية وكمية المادة الفعالة وتحدد حدود نسبة ونوعية الشوائب الغير مرغوبة .

توضع المواصفات بما يخدم المشتري وتفيد فى مقارنة القطعات الخاصة بالمبيد فى التصنيع وتحدد خطوات التحليل للمادة الفعالة والشوائب وتتضمن طرق التعريض والكشف عن المادة الفعالة وتحدد معايير كيميائية وطبيعية واجبة الاجراء كاختبارات اضافية للتأكد من ملائمة وصلاحية المستحضرات . كما يجب ان تؤكد المواصفات على صلاحية المركب للاستخدام الموصى به على الهدف المحدد من الناحيتين الكيميائية والطبيعية . على الصانع ان يؤكد ان مركبه يفي بالمتطلبات التى يحتاجها المنتفع والمستخدم النهائى ومن ثم يقدم وينشر المواصفات ولكن فى العديد من الحالات تقوم الهيئات المحلية والدولية باصدار المواصفات خاصة مع المركبات التى انتهت فترة الاحتكار الخاصة بها patents .

* المواصفات قدد تتضمن المبيدات الفعالة والمستحضرات

مواصفات منظمة الغذاء والزراعة	FAO specifications
(أ) المصدر	(ب) تفاصيل الطرق التي يرجع اليها (ج) مجالات الاستخدام
(د) معلومات عن طريقة التحليل	(هـ) الدراسات المعملية لوضع المواصفات
(و) الدراسات المعملية المشتركة	(ز) أى معلومات ضرورية اخرى

لا يمكن ان تكون المواصفات فعالة بدون وجود طريقة تحليل مناسبة وهذه تشمل كذلك الاختبارات الطبيعية للتأكد من ملائمة المستحضر بنفس اهمية وكفاءة التحليل الكيميائي . الاتفاق على هذه الجزئية والحاجة دعا الى ضرورة التعاون الدولي وتنسيق الجهود بين المختبرين بتصنيع وتداول والانتاج فى المبيدات . وفى هذا المقام فان الهيئة الدولية للتحليل المشترك للمبيدات

Collaborative international pesticides analytical council (CIPAC)

ورابطة كيميائي التحليل الرسمية Association of official analytical chemists (AOAC) تقود العمل والخطوات التحضيرية للطرق المشتركة .

مواصفات الفاو : FAO specifications

بعد سلسلة من الاجتماعات التي بدأت منذ ١٩٦٥ ثم نشر مجمع عن مواصفات مركبات وقاية النباتات فى عام ١٩٧١ (مرجع - ١) . كان تطور المبيدات من قبل الفاو تتمشى فى نفس الاتجاه الذى وضع قبلا بواسطة منظمة الصحة العالمية WHO والذى نشر تحت عنوان « مواصفات المبيدات المستخدمة فى مجال الصحة العامة عام ١٩٦٧ Specifications for pesticides used in public health » . لقد تأكد ان هناك حاجة لاصدار مستقل عن المواصفات بواسطة الفاو FAO لأن المبيدات التي تستخدم فى مكافحة نواقل الامراض التي تضر بصحة الانسان لا تكون مناسبة لوقاية النباتات .

تم اعداد المواصفات بواسطة مجموعة عمل تتكون من الباحثين الرسميين الحكوميين ويمثلهم فنيين ويساعدهم خبراء من هيئة الصحة العالمية WHO وممثلين عن الهيئات الدولية المعنية بالمبيدات كما يجب استشارة علماء الصناعة أو يمكن دعوتهم للتشاور وابداء النصح فى بعض الامور الخاصة . يتم اعداده سواء المواصفات وتوزع للدراسة والتعليق على مجموعة العمل . توضع البيانات فى الجدول (١) نوع المعلومات التي توزع كمسودة للمواصفات واذا وافق الجميع على ملاءمتها توزع للتعليق على رجال الصناعة والوكالات الحكومية المعنية وبعد الموافقة عليها يعاد توزيعها وتعرض للتوصية بواسطة مجموعة العمل وقد تكون التوصية على الاشكال التالية :

توصية مؤقتة أو غير تجريبية tentative .. تعتمد على وتطلب الحد الأدنى من المتطلبات وطريقة التحليل التي وضعها صانع المبيد ولا تشمل على دراسات مشتركة collaborative .

توصية مؤقتة شرطية provisional .. تتطلب او تبنى على توفير طريقة تحليل مشتركة أو مواصفات كاملة للفواى انها تتطلب استيفاء جميع المتطلبات الضرورية وطريقة تحليل السبائك .

يتم نشر هذه التوصيات تباعا . تقوم مجموعة العمل بمناقشة المركبات التي ما زالت تحت الاحتكار patented products مباشرة مع الصانع ومع اى خبير ترى المجموعة التشاور والاستفادة من خبراته . فى حالة السلع التي انتهت فترة الاحتكار يكون من الضرورى اجراء تشاور على المستوى الدولى للتأكد من ان جميع الجهات المعنية ابدت الرأى ، يتم التوافق بين الصناعة العالمية ومجموعة العمل من خلال هيئة الجيفاب والخبراء والهيئات الغير مشتركة فى الجيفاب يمكنها حضور اللقاءات وابداء الرأى والتعليقات . لقد وافقت مجموعة العمل على طرق التحليل للتجارب المشتركة وضرورة اتباعها وكذلك وضعت السبائك وجمعية AOAC طرقا فى المتناول والتي يمكن عمل تحويرات فيها بعد الاختبارات المشتركة . السبائك هيئة دولية التكوين ولكن العديد من التقارير تصدر من اللجنة الاستشارية لتحليل المبيدات -Pesticides analytical advisory com-mittee (PAC) التابعة لوزارة الزراعة فى المملكة المتحدة والتي تضطلع بتجهيز طرق تحليل مجموعة السبائك للمبيدات النقية والمستحضرات النهائية وبمعدا تجهز المواصفات المطلوبة .

بدأت مجهودات المملكة المتحدة فى الرقابة على المبيدات من خلال وضع المواصفات وطرق التحليل بعد الحرب العالمية الأولى وبعد ذلك استمرت مجهودات وزارة الزراعة ورابطة صناع المبيدات الانجليزية لوضع المواصفات وطرق التحليل ولكن ظهور المبيدات الجديدة جعل من هذه المهمة مؤمنة ولتفادى تاثير الجهود هنا وهناك اقترح R. de B Ashworth (١٩٥٧) ضرورة تعيين لجنة قومية فى كل دولة تكون مسئولة عن طرق تحليل المواد الفعالة والمستحضرات المجهزة من المبيدات . يجب اجراء اختبارات مشتركة لطرق التحليل مع التنسيق مع اللجنة الدولية والهيئة الدولية المشتركة لطرق تحليل المبيدات (CIPAC) .

اللجنة القومية البريطانية PAC لها شركاء فى الدول الاربية فى الاجتماع الأول للسبائك عام ١٩٥٧ حضر بالإضافة الى العلماء الانجليز ممثلين من ايرلندا والمانيا الاتحادية وفرنسا وبعد ذلك زاد تمثلى القارة الاربية تباعا وتم التوصل لاتفاق مع الفاو FAO على ان تنشر طرق التحليل فى كتاب وقاية النبات الذى تصدره الفاو FAO plant protection bulletin . وفى نفس الوقت توصل ممثلوا الصحة العالمية WHO والسبائك CIPAC للتعاون فى تجهيز هذه الطرق . بعد ذلك زاد تمثيل الدول والهيئات المختلفة فى الاجتماعات ووصل عدد الدول المشاركة الآن ٢١ دولة بالإضافة الى اعضاء معاونون من الرابطة الرسمية لكيميائى التحليل Official assocaition of analytical chemists (AOAC) ومنظمة الغذاء والزراعة التابعة للأمم المتحدة (FAO) وهيئة الصحة العالمية (WHO) وستة دول اخرى . كما يحضر الاجتماعات مراقبين من الدول الاخرى

والسوق الأوروبية المشتركة . هناك تعاون وثيق مع الجيفاب والمعامل الرسمية والصناعية المعنية بطرق تحليل المبيدات .

* تتمثل اهداف السيباك فى المجالات الآتية :

(أ) تعزيز الاتفاق الدولي عن Promote international agreement :

- ١ - طرق تحليل المبيدات وغيرها من المواد التى يقوم المركز بتقديرها من وقت لآخر .
 - ٢ - الطرق الخاصة بتقدير المواصفات الطبيعية والكيميائية للمبيدات فى الصور النقية والمستحضرات التجارية .
 - ٣ - الطرق الخاصة بالعلاقة بين الفعل البيولوجى والصفات الطبيعية والكيميائية للمبيدات .
- (ب) رعاية وتنظيم الطرق الخاصة بالتحليل المشترك الداخلى بين المعامل المهمة بالموضوع Inter-laboratory collaborative analysis .

من الأهداف الإضافية الدعوة الى واقامة الندوات واللقاءات عن طرق التحليل ونشر الطرق التى ووفق عليها ونشر كتاب المؤتمر بالتعاون مع الهيئات الأخرى (٣) . بالرغم من الاختلاف بين الولايات المتحدة الأمريكية وأوروبا من حيث البداية والتطور كان لابد من تعاون وثيق بين هيئة AOAC والسيباك CIPAC . لقد شرع التعاون فى اللقاء السابع للسيباك عام ١٩٦٣ وفى اجتماع ١٩٧١ بواشنطن تم الاتفاق على ضرورة تجنب ازدواجية الجهود ولذلك تقرر أن يعمل السيباك والـ AOAC معا وتم تجهيز دليل العمل المشترك Guidelines for collaboration . لقد ادى مكتب الاتصال الى بدأ العمل المشترك لتطوير الطرق حيث تعاون AOAC و CIPAC ، WHO بما يسمح لأى منهم بتعديل وتطوير طريقة الآخر . مما دعا الى ظهور طريقة AOAC - CIPAC أو CIPAC - AOAC لتوضيح المؤسسة المسؤولة عن تطوير الطريقة . لقد تم تصنيف الطرق التى وضعتها السيباك منفردة على انها طرق مؤمنة تستند الى الوثائق Provisional .

: الحاجة للدراسات المشتركة Needs for collaborative study :

تم تعريف الرابطة الرسمية لكيميائى التحليل AOAC على انها الرابطة التى تقابل وتلبى الاحتياجات الأولية لجهات التشريع الحكومية والوكالات البحثية لطرق التحليل ..والآن نحاول مد نشاطها ودورها الهام الى النطاق الدولى . من خلال الجهود التى أصبحت الدراسات المشتركة من اكثر الوسائل اهمية لضمان صلاحية طرق التحليل ولتقدير مدى الثقة فى الطريقة فى الدراسات المشتركة تزود بعض المعامل (متفق على العدد) بمجموعات متماثلة من العينات التى تتبع فى حدود الطريقة المختارة وهدف هذه الدراسة التأكد من الدقة والمصدقية والحساسية ومدى وحدود التقدير وغيرها من الصفات الخاصة بالطريقة .

هذا العمل يتم بالتنسيق وتوجيهات محكمة الرابطة Associate referee وهم من خيرة العلماء والمتخصصين وهم يعملون كذلك بناء على توجيهات والإشراف الإداري للمحكمين المعموم . الحد أو أقل عدد من العينات هو ستة عينات ترسل لخمسة معامل على الأقل للتحليل تبعاً للطريقة المختارة . التعريف المتفق عليه للدراسة المشتركة من قبل هيئتي AOAC - CIPAC هو « دراسة خاصة بالتحليل يشترك فيها عدد من المعامل لتحلل نفس العينة أو العينات بنفس الطريقة أو الطرق » .

An analytical study involving a number of laboratories analyzing the same sample (s) by the same method (s) for the purpose of validating the performance of the method (s).

: الحاجة للتناسق أو التوافق The need for harmonization

تعنى هذه المقالة بالدور الأولي الذي تضطلع به السبياك والـ AOAC في تجهيز طرق تحليل مستحضرات المبيدات . التعضيد القانوني والشرعي للمواد القياسية يجعل من الأهمية استخدام الخطوات المناسبة لتقدير المبيدات . لتفادي تكرار نفس الجهود ولتسهيل وتعضيد التجارة الدولية كان من الضروري ان يكون قبول وصلاحيه الطرق على المستوى والنشاط الدولي ويكون دور السبياك دولياً متناسقاً مع ما تقوم به اللجان والهيئات القومية . وكلما ازداد دور النشاط الدولي ودور المؤسسات الدولية يكون من الضروري والمناسب التركيز على انشطتها وعلاقتها بالكيمياء التحليلية . بالرغم من ان هناك اساس عام لعمليات وخطوات التحليل فقد اتفق على قيام الهيئات الدولية لتطوير الطرق القياسية على اساس الدراسات المشتركة .

في اللقاء الخاص بتناسق دراسات التحليل المشترك الذي عقد عام ١٩٨١ في هلسنكي بفنلندا تم دعوة الدكتور H. Egan لمناقشة مختلف الفلسفات التي طرحت لوضع الطرق القياسية للتحليل وتوضيح الحاجة لفحص المعايير المقترحة والموضوعة للحكم على صلاحية الطرق مع الاخذ في الاعتبار الموقف الدولي في هذا الشأن . تم استعراض المشاكل التي حدثت في غياب التنسيق بين الجهات المشتركة في الدراسة . والجهات التي لم تشارك في الدراسة ليست في حاجة الى تحديد ما اذا كانت الطرق تناسبها أم لا . ولا خلاف على بعض المعايير الخاصة بالتحليل مثل الدقة accuracy والصلاحية precision والتكرارية repeatability واعطاء نفس النتائج مع التكرار reproducibility وحدود التقدير وكذا فهم جميع المعايير التي تقبل على اساسها الطريقة . لقد اقترحت التعريفات التالية في طرق التحليل المناسبة :

+ حدود التقدير limit of detection .. أصغر أو أقل تركيز (أو كمية) من المراد التي يمكن تحديدها بصورة مؤكدة عند اجراء خطوات التحليل الكامل .

+ المصلاحية (التكرارية فى اعطاء نفس النتائج) precision (reproducibility) ...
الاتفاق فى النتائج للحصول عليها من تنفيذ خطوات التحليل مرات عديدة تحت نفس الظروف فى
المعامل المختلفة .

+ الدقة accuracy .. الاتفاق بين القيمة الحقيقية للتقدير ومتوسط قراءات التحليل التى
يتم الحصول عليها من اجراء خطوات التجريب مرات عديدة وهذه يجب ان تتضمن اكبر عدد من
التحليلات والنتائج ما أمكن .

من المشاكل الاخرى ما يتعلق بأسلوب وكيفية وصف طرق التحليل description الدراسات
المشتركة التى تستخدم بواسطة AOAC لتعضيد طرق التحليل تبنى على الطرق المجهزة فى نماذج
قياسية التى فيها يتم الوصف الدقيق للأجهزة والجواهر الكشفية وطرق وخطوات التحليل . فى
السنوات الاخيرة تم تزويد المعامل بأنواع مختلفة من الاجهزة المتقدمة المعقدة والمباهطة التكاليف
حتى تصبح قادرة ومتماشية مع متطلبات التحليل والمهام المطلوبة منها . هذا الوضع جعل من
الصعب اجراء دراسات مشتركة بناء على وصف دقيق ومحدد للأجهزة والأدوات مثل اعمدة
الكروماتوجرافى . وحديثا ساد الاتجاه من قيم AOAC لكتابة طرق التحليل بأسلوب عام واجراء
دراسات مشتركة لهذه الطرق توضح تفصيلات الطرق بناء على معايير الاداء وليست على الاجهزة
المتخصصة والجواهر الكشفية . لذلك على القائم بالتحليل ان يختار اى جهاز أو أى ظروف تقدير
طالما تحصل على اداء جيد ومقبول . طالما كانت هناك العديد من الطرق مكتوبة بهذا الشكل العام
وتعرضت لاجراء العديد من التحويرات من قبل القائمون بالتحليل بصورة تختلف من معمل لآخر
اصبحت هناك حاجة مستمرة للتأكد من صلاحية الدراسات المشتركة فى نطاق الوصف العام
للطرق .

طرق التحليل وحدود السماح Methods of analysis and tolerances :

من الشائع استخدام الطرق الغير متخصصة Non-specific لتقدير المواد الفعالة من المبيدات
تستخدم طريقة الكشف عن الكلورين الكلى أو محتويات الحموضة لتقدير احماض الفينوكس
الكاتيونك . لقد تم احلال هذه الطرق بغيرها من الطرق المتخصصة مثل الكروماتوجرافى الغازى
ولكن فى غياب هذه الطرق المتخصصة كما فى مبيدات الماتيب والزنيب وغيرها من مشتقات
الاثيلين داي اىوكربامات يمكن إستخدام الطرق الغير مباشرة .

يمكن تحديد اهمية الطرق المتخصصة بناء على الاعتبارات الخاصة بالنشاط الحيوى . تحليل
الملايون بطريقة الفوسفور الكلى او الطريقة اللونية قد تعطى ارقام عالية كثيرا وبشكل معنوى مقارنة
بطريقة الكروماتوجرافى الغازى . هذا مهم من ناحية النشاط البيولوجى ويحدد اهمية ضرورة تحديد
طريقة التحليل اذا تم توصيف محتوى المادة الفعالة من قبل المشتري .

هناك حدود مسموح بها تختلف فيها النتائج الفعلية للتحليل اى محتوى المادة الفعالة المقطرة

عن القيمة الاصلية المفروض وجودها في العينة محل التحليل وهذا بسبب تعرض طرق التحليل لأخطاء في التنفيذ واختلاف في ظروف التصنيع بما يؤدي الى عدم تجانس المنتج النهائي .

الحدود المسموح بها يطلق عليها tolerance وهي تمثل الانحراف عن القيمة المعلنة وهي تتأثر بالعوامل التالية :

أ - تكرارية وصلاحية الطريقة .

ب - خطأ العينات في المنتج .

ج - احتياجات المشتري .

جدول (٢) : آثار الملوثات في المبيدات النقية والمستحضرات .

الديوكسينات الكلورينية والبيتزوفيران

الايزومالتيون

النيتروسامينات

الازونين الكلورينية والأزوكسي نترين

الايلمين ثيوريبرا

الموئات والمشااكل البيئية Contaminants and environmental problems :

يجب ان يؤخذ في الاعتبار موقف مخلفات المبيدات وتأثيراتها البيئية ليس فقط ما يتعلق بالمواد الفعالة ولكن المواد الاخرى الموجودة معها والتي تعتبر شوائب . ان تعريف مخلفات المبيد كما وضعتة هيئة إتحاد كيمياء المبيدات IUPAC هو « اى مادة او مخلوط من مواد فى أو على أى وسط من جراء استخدام المبيد وهو يشمل اية مشتقات مثل نواتج الانهيار والتحول ونواتج التمثيل ونواتج التفاعل والشوائب . ان اهمية وخطورة هذه المخلفات تتوقف على السمية الاساسية للمادة ودرجة التعرض . بناء على هذا التعريف فان المواد المرتبطة بالمبيد فى المستحضر يجب ان تؤخذ فى الاعتبار على انها مخلفات للمبيد pesticide residues . من الأهمية توفر معلومات لتحديد وحسم ما اذا كان استخدام المبيد سيؤدى الى حدوث مخلفات فى المحصول أو السلعة ليس فقط على اساس المادة الفعالة ونواتج التحول أيضا وانما تشمل النواتج الثانوية عند التصنيع والملوئات الاخرى .

فى السنوات الاخيرة برز عدد كبير من هذه المشااكل كما هو واضح فى الجدول (٢) . متطلبات تسجيل المبيدات كما اعنتها وكالة حماية البيئة الامريكية EPA تحدد هذه الموضوعات التى تدخل فى نطاق المشااكل التشريعية . من المهم معرفة تركيب المبيدات المستخدمة على ان

يتضمن ذلك الملوثات الرئيسية المرتبطة بها لتقدير دورها وتأثيراتها على البيئة ولكن بالرغم من ان التأثير الكمي للملوثات يتناقص فان التأثيرات التوكسكولوجية المقابلة تزيد وتعتبر مطلباً أساسياً اذا كان التحليل الكمي مطلوباً في المستويات المنخفضة . تحدد التشريعات في الوكالة Agency ان جميع الشوائب التي تنتج في تصنيع المنتجات النهائية اذا زادت كميتها عن ١, ٠ ٪ من المركب بالوزن لا بد ان تعرف . بالإضافة الى ذلك فان الوكالة تتطلب تحليل كيميائي كل حالة على حدة اذا كانت بيانات التصنيع وغيرها من كيمياء المركب تقترح وجود مستويات منخفضة من الشوائب ولكنها ذات سمية عالية (المراجع - ١٢) .

لقد تم وضع هذه الاقترابات والتشريعات بسبب ان التقديرات الميكروبية خارج الخلايا In-vitro للتمييز بين كفاءة وفعالية المبيدات من حيث تأثيرها الوراثي السام للمستويات الواطية تعطى نتائج مضللة موجبة أو سالبة . لقد ادى العديد من المشاكل التطبيقية والعملية الى تطوير هذه التوصيات . بعض التأثيرات الضارة والمعاكسة مثل الضرر الغير متوقع على النباتات تعطى مؤشرات على ان بعض المركبات تحتوي على شوائب تصنيع او ملوثات تؤثر على حساسية النباتات المعاملة بها او النباتات المجاورة كما في حالة مبيدات الحشائش من مجموعة الفينوكس التي تعطى استرات متطابقة عندما يحدث لها استرة مع الكحوليات ذات الاززان الجزئية المنخفضة .

لقد صاحب ظهور التأثيرات الضارة المعاكسة للملوثات تقدم معنى في طرق التحليل وقد يساير هذا التزامن في خط متوازي كما في الديوكسينات الكلورينية والنيتروسامينات . الديوكسينات الكلورينية عبارة عن احوال كلوريني بمركب dibenzo-o-dioxins ومن اكثر مشابهاه سمية المشابه tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) 2, 3, 7, 8 - لقد وجدت الديوكسينات الكلورينية والداي بنزوفينوران الكلورينية ومشابهاها في العديد من الفينولات الكلورينية بدرجة تتوقف على المصدر وظروف التخليق . العديد من المراجع تضطلع الآن بمشاكل الديوكسينات والمستويات المنخفضة الواجبة التقدير والكشف عنها في المبيدات المرتبطة بهذه المجموعة البنتاكلوروفينول (PCP) الذي يستخدم في حفظ الاخشاب وكذلك مركب 2, 4, 5 - T والارل PCP يلقي اهتمام الباحث لأنه مصدر العديد من الملوثات السامة . لقد اجريت دراسات طويلة لتأكد من دور البنتاكلوروفينول عند معاملة الاخشاب وموت الدجاج باعداد كبيرة عندما عزل المركب الهالوجيني على السمية hexachloro-di-benzo-p 1, 2, 3, 6, 7, 8 - dioxin (HCDD) من الدهون المسممة . قد يحدث تكوين لمشتق TCDD اثناء التحلل القلوي لرابع كلوريدا لبنزين الذي يتحول الى ترائي كلوروفينول على درجة حرارة المعمل تحت ضغط . حدوث الوفاة في الثدييات من جراء التعرض لمركب 2, 4, 5 - T لاقى الاهتمام وقد تأكد ان التسمم يرجع الى وجود ملوث TCDD بما دعا الى التشريع بالا يزيد محتوى الـ TCDD في مركب 2, 4, 5 - T عن ١, ٠ جزء في المليون . وفي عام ١٩٨٠ نجحت الصناعة في تقليل كمية هذا الملوث الى ٠, ٠١ جزء في المليون .

المبيد الحشري الملاثيون diethylphosphorodithioate - 0.0 للنمى ايشيل
مركباتوكسينات يستخدم على نطاق واسع فى جميع انحاء العالم خاصة لمكافحة ناقلات
الامراض مثل البعوض . لقد حل هذه المركب محل الـ د د ت و سادس كلوريد البنزين بعد ما
زادت مقاومة الحشرة لهذه المركبات ... لقد ساد اعتقاد من الامان العالى لهذا المركب ولكن فى
عام ١٩٧٦ حدثت حالات رهيبة من التسمم على العمال المشتغلين بمكافحة بعوض الماريا
وصلت الى ٧٥٠٠ حالة فى باكستان وكانت الاعراض متماثلة تماما لأعراض المبيدات
الفوسفورية العضوية وقد لوحظت مع ٣ مستحضرات . يؤدى التطبيق الردى وعدم اتباع التعليمات
الى ملامسة المبيد للجلد وامتصاص المبيد . ولقد تم دراسة مواصفات مستحضرات الملاثيون واثباتها
خلال التخزين تحت الظروف الإستوائية ، ولقد اوضحت نتائج التحليل ان هذه المستحضرات بها
نسبة عالية جدا من الأيزوملايون بمقدار اكثر من ٢ ٪ مما يحدث سمية عالية للتدنيات .

اثبتت الدراسات العلاقة الوثيقة بين نسبة الأيزوملايون وعملية تكوين المشابهات والسمية على
التدنيات وتم استنتاج ان زيادة السمية ترجع الى المواد الخاملة الموجودة فى المستحضرات . حدث
العكس مع المبيد الفوسفورى الفينيتروثيون حيث انه بالرغم من تكوين مشابه S - methy ismor
اثناء التخزين الا ان السمية لم تزداد . يمكن الكشف عن الأيزوملايون باستخدام اجهزة
الكروماتوجرافى الغازى ولقد اوصت منظمة الصحة العالمية WHO ان نسبة هذا المشابه
فى مستحضر ٥٠ ٪ مسحوق يجب الا يتعدى ٩, ٠ ٪ بعد ٦ أيام من التعرض على درجة حرارة
٥٥ °م .

العديد من مركبات النيتروزامينات nitrosamines معروف عنها تأثيرها الطفرى أو
السرطانات على حيوانات التجارب لذلك كان من الضرورى تحديد مصادر هذه الكيمايات فى
البيئة . وجود النيتروزامينات فى مستحضرات المبيدات تنتج عادة من النواتج الثانوية لخطوة النتزة أو
التفاعل بين املاح الامين لبعض المبيدات والتترتيد المستخدم كمثبط للتآكل فى المستحضر .

المبيدات الفطرية من مجموعة Ethylene bisdithiocarbamate (مانكوزيب ، مانيب ،
نايام ، زينيب ... الخ) قد تتكسر فى المحاليل المائية وتنتج الايثيلين يوريا وغيرها من نواتج الانهيار .
يسبب هذا المركب (ETU) ورم فى الغدة الدرقية فى حيوانات التجارب كما يسبب تشوهات فى
العمود الفقرى teratogenic وتأثير طفرى mutagenic . اظهرت نتائج التحليل لمستحضرات
المبيدات الفطرية ان مركب ETU يوجد كشوائب كما قد ينتج مع بعض المستحضرات اثناء
التخزين والتداول .

لذلك نقول ان الملوثات الموجودة فى المواد الفعالة أو فى المستحضرات النهائية قد تحدث من
جاء التفاعلات مع مكونات المستحضرات او من خلال التغير الذى تحدده ظروف التخزين وهذا
يستدعى وضع طرق خاصة للتحليل للكشف عن هذه المواد .

Literature cited المراجع

- 1 . FAO working party of experts on the official control of pesticides : Section B (specifications), FAO agricultural development paper, No. 93, "Manual on the use of FAO specifications for plant protection products", Food and agricultural organization of the United nations, Rome, 1971.
- 2 . "Specifications for pesticides used in public health", World Health Organization, Geneva, 1967.
- 3 . Ashworth, R. deb., Henriet, J., Lovett, J. F., CIPAC Handbook Vol. I, Raw G.R., Ed., Collaborative International Pesticides Analytical Council, Ltd., Harpenden, Hertfordshire, England, 1970.
- 4 . Lovett, J. F. in "collaborative Interlaboratory Studies in Chemical Analysis" (IUPAC Symposium Series), Egan H. and West T. S., Eds., Pergamon Press, Oxford, d1082, p. 139.
- 5 . "Guidelines for Collaboration between the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) and the Collaborative International Pesticide Analytical Council (CIPAC)", J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1974, 57, 447 - 9.
- 6 . Association of Official Analytical Chemists, Handbook for AOAC Members d(5th Edition), Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 1982, p. 28.
- 7 . Analytical Chemistry 1978, 50, 337A - 340A.
- 8 . Egan. H. in "Collaborative Interlaboratory Studies in Chemical Analysis" (IUPAC Symposium Series), Egan, H., and Wlest, T.S., Eds. Pergamon press, Oxford, 1982, P. 3.
- 9 . Kane, P.F., Stridnghan, R.W., J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1983, 66, 513.
10. Kane, P. F., "Instrument Specification in Official Methods : A discussion", the referee (A.O.A.C.), 1983, 6, (9) 4.
11. Bates, J.A.R., Pure and Appl. Chem. 1982, 54, 1361.
12. U.S. Environmental Protection Agency Pesticides Registration; Proposed Data Requirements, 24, Nov. 1982, 40 CFR Part 158, Federal Register 1982, 41 (227) 53182.
13. Metcalfe, L.D., J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1972, 55, 542.
14. Woolson, E.A., Thomas, R.F., ensor, P.D.J., J. Agric. Food Chem. 1972, 20, 351.

15. Courtney, K.D., Gaylor, D.W., Hogan, M.D., Falk, J. J., Bates, R.R., Mitchell, I., Science 1070, 163, 864.
16. Baker, E.L., Jr., Warren, M., Zack, M., Dobbin, R.D., Miles, J. W., Miller, S., Teeters, W.R., The lancet 1978, 31 - 34.
17. miles, J. W., Mount, D.L., Starger, M.A., Teeters, W.R., J. Agric. Food Chem. 1979, 27, 421.
18. Kearney, P. C., Pure and Appl., 1980, 52, 499 - 526.
19. Bunce, N.J., Corke, C.T., Merrick, R.L., Bright, J. H., Chemosphere 1979, 8, 283.
20. Sundström, G., Jansson, B., Renberg, L., Chemosphere, 1978, 7, 973.
21. Vettorazzi, G., Residue Reviews, 1977, 66, 137.
22. bontoyan, W. R., Lookerd, J. B., Kaikser, T. E., giang, P., Olive, M.B., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1972, 55, 923.
23. Bontoyan W. R., Looker, J. B., J. Agric. Food Chem., 1973, 21, 338.

الفصل السادس

- التطويرات الحديثة فى الطرق الالية لتجهيز العينات الخاصة بتحليل المبيدات

- مقدمة

- الاستخلاص بالمذيبات

- التقاير الومضى فى التحليل المستمرة الانسياب

- استخدام الكروماتوجرافى .

- الاستنتاجات .

التطورات الحديثة فى الطرق الآلية لتجهيز العينات الخاصة بتحليل المبيدات

Recent developments in automatic sample preparation techniques

مقدمة Introduction :

الآلية فى الكيمياء التحليلية اتجاهها يعانى من نقص التعريفات المقبولة . ويقوم صناع الاجهزة بوصف منتجاتهم على انها كاملة الآلية اذا كان الجهاز يقوم بعمل واحد فقط بصورة اوتوماتيكية ، وعلى سبيل المثال وسائل او اجهزة تداول البيانات . ولقد فكر علماء الاتحاد الدولى للكيمياء البحتة والتطبيقية من خلال اللجنة الخاصة بالتسميات والمصطلحات المتداولة فى التحليل تقديم تعريفات صارمة ووضع مسميات دولية شاملة . ولقد قامت اللجنة بالتفرقة والتمييز بين الميكنة والآلية الذاتية Mechanization and automation حيث إتفق على ان الاصطلاح الاخير يخص الموضوعات الموجودة لها اشرطة ترجع المعلومات . ويستخدم الاصطلاح Automation ليشمل التطويرات فى طرق الكيمياء التطبيقية .

عندما يراد الانتقال من الطريقة اليدوية الى الآلية يصبح من الأهمية تعريف المواصفات المطلوبة لاحتياجات التحليل . والطريق البسيط هو ميكنة الخطوات اليدوية مباشرة . وليس هذا افضل الاساليب لأن التكنولوجيا الحديثة واستخدم التنظيم الآلية يسمح بوجود البدائل ، ومن السهل تعديل الطرق الآلية . ولو ان تعريف مواصفات التحليل ليس سهلا نظرا لضرورة اعتبار متطلبات القامم بالتحليل وطلبات طالب التحليل وحاجة المستهلك لنتائج التحليل .

وستتناول فى هذا الجزء الخبرات والتجارب التى ادخلت على طرق التحليل الذاتية . وقد استمتع ذلك تكتيف استخدام طرق الانسياب المستمرة Continuous flow techniques وهى تتطلب خبرات كبيرة ومعرفة فى الكيمياء الخاصة بطرق التحليل واخذ العينات وكذلك درست حدود هذه التكنولوجيا كما سيرد ذكره فى الآتى :

الاستخلاص بالمذيبات Liquid /liquid solvent extraction :

من اكثر طرق الاستخلاص شيوعا فى المراجع العلمية ما يعتمد على استخدام المذيبات ينما لا يوجد او يوجد القليل من المراجع عن النظم الآلية الذاتية . ولكى يحصل القامم بالتحليل على نتائج موثوق بها من استخدام النظام الآلى يجب ان تتوفر لديه معلومات كافية عن الذوبان النسبى للمركبات مجال الدراسة فى الأوساط المختلفة . وفى الطرق اليدوية يتحصل على هذه المعلومات من جراء الاستخلاص المتعدد واعادة التسييل التى يقوم بها المختص ، بينما فى الطرق الآلية تدخل هذه المعايير فى مواصفات الجهاز نفسه (مدخلات) .

والاستخلاص بالمذيبات يمكن ان يكون آليا ضمن طريقة التحليل بالانسياب المستمر . ويجدر التنويه الى ان طرق استخدام اجهزة التحليل الذاتية التقليدية وكذلك طرق الانسياب والحقن Flow injection تشتمل في احد خطواتها على الإستخلاص بالمذيب . وفي جميع هذه الطرق توجد مضخة تدفع السائل في ملف الخلط الذي غالبا ما يكون مملوء بكرات زجاجية وتكون الاوساط مقصولة في جهاز فصل بسيط يسمح بحدوث طبقات بين الاوساط المائية والعضوية . ويمكن اعادة ضخ احد أو كلا وسطى المذيبين في وصلات الجهاز للتفاعلات الاضافية أو للقياس . ولو أن النسبة بين العينة ومادة الاستخلاص Sample / extraction ratio تختلف في حدود الطرق المستخدمة الا ان التركيز الاقصى اللازم للعمليات الجيدة يكون ٣ : ١ مذيب / عينة) .

ومن الاهمية بمكان التصميم الصحيح لنظام فصل الأوساط وضبط معدل ازالة الأوساط من هذا الجهاز (النظام) . وفي حالة التقديرات المائية ، اذا دخلت بعض الفقاعات في المذيب العضوى في مجرى سريان المركب خلال الخلطة تعطي قراءات مضللة . ويتحدد طبيعة انابيب المضخة كفاءة العملية ، وحاليا حدثت تطورات كبيرة في صناعة البلاستيك واستخدام طرق الازاحة امكن من خلالها التغلب على بعض المشاكل . ويمكن عن طريق التبخير التقنى حتى الجفاف زيادة كفاءة عامل التركيز للمستويات المقبولة . وفي هذا المجال تستخلص العينات في مذيب متطاير يوضع في حاجز خامل متحرك يمر فوقه تيار هواء او تفرغ . وبعد ان يتبخر المذيب تعاد اذابة العينة في مذيب اخر عندما يتحول الحاجز في قسم جديد من الوصلات في الجهاز . وهذه الطريقة تكون مناسبة في حالة ضرورة تغيير المذيب لضمان التوافق الخلطي مع مرحلة القياس كما في الكروماتوجرافى السائل . ولقد تم وصف الإستخلاص بالمذيب في طريقة الانسياب والحقن بواسطة الباحث Karlberg and Thelander عام ١٩٧٨ .

توجد طرق مختلفة للتحكم في مرحلة فصل الأوساط في نظم التحليل المتميزة والمنفصلة ، ولقد تم وصف النظم الساكنة static والحركية dynamic . وقام valis عام ١٩٦٧ بتطوير النظام الحركي باستخدام قوة الطرد المركزي ، حيث استخدم وعاء له شكل الفنتجان محمول على ملف ذو حافة مثقبة متصلة تشبه الفنتجان . وعند الاستخدام يوضع الجهاز داخل وعاء الجمع واذا كانت الشفة مصنوعة من مادة مجبة للماء مثل sintered glass فان الماء سوف يمر في وعاء الجمع عند سرعات دوران واطية تاركا المذيب العضوى في الكأس . وزيادة سرعة الدوران بعد ذلك تطرد الوسط العضوى . ووجود السطح البيني الكاره للماء مثل الـ Sintered PTFE يعمل على طرد الوسط العضوى . والمشكلة الاساسية الموجودة في هذه النظم تتمثل في ان السطح البيني يكون غير ثابت وهذا يتطلب احلال مستمر او اعادة التجديد ، وهذا القصور تسلب العديد من مميزات التقدير الآلى . ولقد لاقى استخدام الطرد المركزي لمساعدة عملية الفصل اهتماما ومجالا كبيرا للتطبيق من قبل وكالة العلوم الطبية والطاقة الذرية Medical science/ Automic energy في النظام الآلى الذى وضعه Anderson عام ١٩٧٠ ، وكذلك استخدم حديثا بواسطة Arndt وآخرون عام ١٩٧٨ في تصميم نظام الاستخلاص الصلب / السائل Solid - Liquid .

حديثاً تم تصميم جهاز فصل باستخدام أسلوب حديث بواسطة الباحث Stockwell & Williams عام ١٩٨٠ . ومن الاساسيات ان الفصل يتم عن طريق امتصاص الوسطين في قرص من سبيكة مثقبة مصنوعة من النيكل كروم محمولة على ذراع متحركة ألياً . ويؤدي تنظيم السرعة الزاوية وقوة الطرد المركزي على القطرات خلال القرص المثقب الى فصل احد الوسطين عن الآخر . وعن طريق ضبط سرعة دوران القرص المثقب مع الحركة الالكترونية الرأسية يمكن للقطرات المفصولة ان تترك القرص وتصطاد بضرب جدر الاوعية الزجاجية . وتزود الاجزاء القاعدية من النظام بصمامات تمكن من سحب وإزالة القطرات المفصولة وادخالها في عمليات اخرى تبعا للتصميم . وباستخدام جهد بين القرص الدائر والاكترود الموجود على بعد ٥ ملمحتر من حافة موتور الدوران يحدث تيار بمجرد زيادة سرعة الدوران بقدر كافى يوقف دوران القطرات السائلة . وهذه الاشارة تعتبر علامة للموتور للاستمرار في الدوران على سرعة ثابتة .

والجهاز الموضح في الشكل (١) ينى بالفرض حيث يصنع جسم وعاء الاستخلاص من زجاج البيركس . ويحدث الانفصال بامتصاص الوسطين في قرص قطره ٢ سم من سبيكة النيكل كروم (A) والسطح العلوى على شكل قيو . والقرص محمول على نهاية قضيب من الصلب الغير قابل للصدأ (B) يلف بواسطة موتور كهربي . والقرص والقضيب والموتور يمكن ان تتحرك على طول محور الدوران لأى من محطات الحركة الثلاثة . والماكينة تظهر عند محطة القاعدة مع القرص المثقب خلال الوعاء الداخلى (C) وحولها يوجد طوق (D) مكونا الجيب الحلقي الاولى (E) . الطوق نفسه يكون الجدار الداخلى للجيب الثانى (F) والجدار الخارجى يمتد لأعلى لتدعيم الغطاء (G) . ويتم تثبيت الوعاء الداخلى والجيبان بصمامات الصرف ، ويمرر قطعة من سلك البلاتين خلال الغطاء الى الاجزاء الزجاجية على مستوى الجيب الأول .

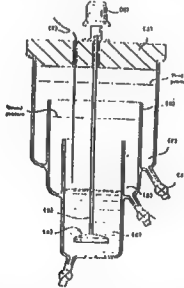


Figure 1. Schematic layout of centrifugal separation system (11).

شكل (١) : شكل يوضح نظام الفصل بالطرد المركزي

عند التشغيل يضخ مخلوط السوائل المراد فصلها في الوعاء بما يغطي القرص عند محطة القاع . ويضبط القرص في وضع يسمح له بالدوران السريع ثم تخلط السوائل جيدا ويتجانس ، ثم يوقف دوران القرص ويرفع بطريقة ميكانيكية كهربائية لوضع اعلى من قمة الطوق . وفي نفس الوقت يبدأ الموتور في تدوير القرص وتزداد السرعة تدريجيا حتى يتوقف خروج قطرات الوسط الاول وهنا يلاحظ سريان تيار محسوس بين القرص والدائر وملك البلاطين . ويظل الموتور في الدوران على سرعة ثابتة لمدة ١٥ ثانية ولمدة كافية لاكتتمال خروج السائل الاول من القرص . يرفع القرص للمحطة العلوية وتزداد سرعته حتى يتم إيقاف الوسط المائي . ويظل القرص الدائر في هذا الوضع لمدة ١٥ ثانية اخرى وبعدها يعاد الى وضعه السفلى . وتكرر العملية بعد ذلك . ويتحصل على المشغل الكهروميكانيكى المستقيم والموتور المستخدم في دوران القرص من شركة Portescap بانجلترا . ويمكن الحصول على احد الوسطين بصورة عالية النقاوة (٩٠٪) عن طريق ضبط حساسية كاشف القطرات . وفي العادة تكون نقاوة الوسط الثانى ٧٠ - ٧٥٪ وقد استخدم الجهاز مع العديد من مخاليط المنيات مثل الكلوروفورم والماء .

وسبيكة النيكل كروم متوفرة لدى شركة مجموعة Dunlop Aviation تحت الاسم التجارى Retimel وهو مناسب لأن قابليته للوسط العضوى اكبر منه للوسط المائى وهذه تعتبر من احد المميزات . ولتحقيق قابلية متساوية لكل وسط تطلّى الاقراص بالذهب لمدة ١٠ دقائق باستخدام تيار قوته ٣٠٠ مللى امبير . ومن الافضل ان تشكل السبيكة بحيث تكون الثقب على السطح بعد الميكنة . ويوزد الجهاز بمنزلة للشرارات الكهربائية من شركة Pantograph precision ltd, slough .

في نظم الاستخلاص بالمذيبات بالطرق الغير حركية تستخدم وحدات حساسة للتحكم في انسياب السوائل من خلال مجموعة من الصمامات . وفي البداية استخدم نظام مكون من زوج من الالكترودات وصمام معين . ولا ينصح باستخدام هذا النظام في حالة المنيات القابلة للاشتعال مثل الاثير . وفي هذه الحالات يخفض من خطورة الانفجار اذا حدثت شرارة كهربية بين الإلكترودات . ويمكن استخدام البدائل وهى كاشفات لربط الأوساط الموصلة مع وحدات استشعار للتوصيل الكهربى . ويفضل ان يكون الكاشف خارج الأوساط العضوية / المائية . ومن الناحية العملية تلعب سرعة التقليب دورا هاما حيث ان السرعة العالية جدا تؤدي الى تكوين مستحلب غير مستقر . ولا يوجد نظام واحد لوسط الاستشعار المرتبط Phase boundary sensor على مستوى العالم .

التطبيقات الويمضى في التحاليل المستمرة الانسياب

Flash vaporization in continuous flow analysis

في التكنولوجيا المعروفة technican API وجد ان اختبار التقطير الويمضى له استخدامات متعددة ، وهو انه اسلوب بسيط للتنقية تمكن من ازالة جميع المركبات المتداخلة من الجواهر الكشفية المتدفقة . ومنذ تقديم التكنولوجيا (AA2) بدأ نسيان الاسلوب الاول وهذا قد يرجع إلى نقص الوحدات المجهزة تجاريا . وآخر وحدة صممها How & Duncombe عام ١٩٦٧

استخدمت لتقدير الالدهيدات والكيوتونات فى المزارع التجريبية للكائنات الدقيقة . ولقد استخدمت الوحدة التى صممها Sawyer & Dixon عام ١٩٦٨ فى تقدير الكحوليات والاحماض فى البيرة ثم تم تطوير الطريقة وتحسين معايير القياس مما ادى الى التغلب على تذبذب النتائج فى النظام الأولى الذى فيه مصادر مختلفة للعمليات خارج نطاق التحكم نظرا لاختلاف الظروف فى الملف . وبالإضافة الى ذلك فان فصل المواد الغير متطايرة الناتجة كمواد عن الوسط المتطاير يحدث خارج اناء وحدة التقطير . وتعتبر فقاعات الهواء الموجودة فى المواد السارية مشوشة عن بعض العمليات .

ان استخدام هذه الوسيلة فى التحليل الروتينى للعينات على مستوى العالم تؤكد أهمية الامام باصول الكيمياء فى هذه العمليات ، حيث تستخدم فى تحليل البيرة والخمور لتقدير نسبة حامض الكحول ومحتوى السكر . بالرغم من ان الطريقة اثبتت كفاءة فى محاليل الكحول والماء . اظهرت التحاليل ان النتائج الخاصة بعينات البيرة كانت منخفضة وهذا يرجع الى احتواء العينة على بعض المواد البروتينية التى تؤثر على معدلات تقطير الكحول مما أعطى نتائج مختلفة . ومن ثم تؤدي اضافة المواد الناشرة (١ ، ٢) نونكس) تيار الماء المتدفق للتغلب على التذبذب . ويحتوى الخمور على ٣٠ ٪ (وزن / حجم) سكر مما يعطى اختلافات مؤثرة على معدل التقطير . لذلك فان اضافة محلول ٢ ٪ سكر ومحلول ٢ ٪ امونيا الى ماء الفسيل تحسن من كفاءة التقطير لأنها تعادل الحامض وتغلب على السكر .

وحيث ان وحدة التقطير المومضى كما وصفت اعلاه لها العديد من الاستخدامات فى الطريقة (AAI) الا انها يمكن ان تدمج مع تكنولوجيا الطريقة (AA2) . ولتقدير ثاني اكسيد الكبريت فى الخمور والمشروبات يكون لهذا التكتيك مميزات عديدة تفوق الطرق التجارية اعتمادا على الغلاف الغازى .

استخدام الكروماتوجرافى Chromatographic applications :

تم جعل العديد من الاستخدامات الكروماتوجرافية تعمل بصورة آلية خاصة حقن العينات وكذلك تجهيز النتائج وعمل التقرير . ويمكن ان تستغل قوة فصل العمود فى عمليات ما قبل المعاملة . وقد طور جهاز آلى لتحليل Furfur aldehyde فى الزيت للفصل الأولى فى عمود الكروماتوجرافى الغازى المرتبط بالجواهر الكشاف اللونى المتخصص فى تيار السائل المستمر فى التدفق . ويزود الجهاز بوحدة ترجيع مما يزيد من طول فترة حياة العمود ويزيل الايدروكربونات الثقيلة من تيار الغاز . وتعطى الطريقة قمة فردية واحدة على الكروماتوجرام للعينات المحتوية على الفورفورالدهيد الذى أمكن تعريفه بإشارة أو مضخة (a) وكذلك فترة الارتباط Retention time (b) . ومن اهم مواصفات الجهاز هو التصميم الخاص بالسطح بين فتحة خروج الجهاز GC وتيار سريان السائل . ويستخدم التصميم جهاز الكروماتوجرافى الغازى التقليدى المزود بمحقن آلى وبكشاف تقليدى يمكن استبداله بجهاز قياس الألوان . ويمكن ان يزود الجهاز بكاشفات أخرى تعطى مزيدا من التقديرات مثل الالدهيدات فى دخان السجائر .

وغالبية النظم التجارية المرتبطة بالكروماتوجرافى الغازى والـ HPLC تعطى قليل من الاهتمام

لمشكلة تجهيز العينات . ومن الناحية العملية هناك امثلة قليلة تشير الى عدم اهمية المعاملة المسبقة قبل الحقن في العمود . ولقد وضع نظام متكامل الالية لتحليل الايثانول في بعض المركبات العطرية . وهناك بعض الاجهزة ادمجت فيها المعاملة المسبقة بناء على النظام الذاتي للتحليل لجهاز Auto analyzer المرتبط مع جهاز GC المزود بنظام تجهيز النتائج . ويستخدم اسلوب خاص في الحقن لنقل العينات من الوصلات الى عمود الكروماتوجرافى الغازى . وتوجه العينات التى سبق معالجتها للأناء البين سطحي باستخدام صمام ثنائى الاتجاهات . ويتم حقن محلول واحد ميكروليتر فى عمود الكروماتوجرافى الغازى خلال الأنبوبة الشعرية باستخدام نظام زائد الضغط . وحديثا تم عمل نفس النظام مع جهاز الكروماتوجرافى السائل على الضغط HPLC ويقوم الصمام الخاص بالعينة بسطح الحقن .

الاستنتاجات Conclusions :

حديثا تم تطوير مجالين ذات اهمية تجارية الأول يتمثل فى ادخال طرق الانعكاس بالاشعة تحت الحمراء مما ادى الى تقادى العديد من المعاملات المسبقة اللازمة للتحليل التقليدى والثانى استخدام الانسان الالى لميكنة جميع العمليات اليدوية . وقد تم ادخال هذا التكنيك فى البداية لتقدير الرطوبة ونسبة الزيت والدهن فى منتجات الحبوب . وتم تطوير العديد من الأجهزة فى شركات مختلفة وتم احلال مجموعة من الطرق والخطوات الكيميائية بمقاييس كهربية فى كل من المناطق الستة للاشعة تحت الحمراء بالمعايرة مع نظام الكمبيوتر المناسب ولقد ساهم هذا النظام فى حل الكثير من المشاكل .

REFERENCES قائمة المراجع

- 1 . R. Sawyer and E. J. Dixon, The Analyst 93 669 (1968)
- 2 . R. Sawyer and E. J. Dixon, The Analyst 93 680 (1968)
- 3 . R. Sawyer, E. J. Dixon and E. Johnson, The Analyst 24 1010 (1969)
- 4 . R. Sawyer, E. J. Dixon, R. G. Lidzey and P. B. Stockwell, The Analyst 95 957 (1970)
- 5 . J. M. Carter and G. Nickless, The Analyst 95 148 (1970)
- 6 . Bo karlberg and S. Thelander, Anal. Chim. Acta 98 1 (1978)
- 7 . G.G. Vallis, UK Patent application 14964/67 (1967)
- 8 . N.G. Anderson, Am. J. Clin. Pathol 53 778 d(1970)
- 9 . R. W. Arndt, W. Schurmann, H. Bartels and H.D. Werder, J. Automatic Chemistry 1 28 (1978)
10. J.G. williams and P. B. Stockwell, UK Patent application 8023547 (1980)
11. J. G. Williams, P. B. Stockwell, M. Holmes and D. G. Porter, J. Automatic Chemistry 3 82 (1981)
12. Trowell, Lab. Pract. 18 144 (k1969)
13. P. B. Stockwell, Proc. Anal. Div. Chem. Soc. 12 273 (1975)
14. R. H. Mandi, L. H. Weinstein, dJ. S. Jacobson, D. C. McCune and A. E. Hitchcode, Automation in Analytical Chemistry, Proc. Technicon Symposium. Tecnicon Inc./ Mediad Inc., New York pp. 270-273 (1966)
15. J. Keay and P.M.A. Menage, The Analyst 95 379 (1970)
16. R. E. Duncombe and W. H. C.K Shaw, Automation in Analytical Chemistry 1966 (Proc. Technicon Symposium), Vol. 2, Mkediad Inc., New York pp. 15-18 (1967)
17. R. G. Lidzey, R. Sawyer and P. B. Stockwell, Lab. Pract. 20 213-216 and 219 (1971)
18. N. Jennings, N. G. buntton, N.T. Crosby and T. G. Alliston, J. Assoc. Public Analysts 16 59 d(1978)
19. R. G. Lidzey and P. B. Stockwell, The Analyst 99 749 (1974)
20. P. B. Stockwell, Lab. Pract. 27 715 (1978)
21. P. B. Stockwell and R. Sawyer, Anal. Chem., 42 1136 (1970)
22. K. H. Norris and J. R. Hart, Proc. Internat. Symp. (1963) on Humidity and Aloistrine, Reinhold, New York, pp. 14 and 19-25 (1965)

الفصل السابع

- أساسيات عمليات الاستخلاص والتنظيف في تقدير المخلفات

- * مقدمة
- * الاستخلاص بالمذيبات
- * طرق تنظيف العينات
- * تركيز العينات في المستخلصات
- * طرق عامة للفصل

اساسيات عمليات الاستخلاص والتطهير في تقدير المخلفات

Extraction and clean-up procedure

مقدمة :

الخطوة الأولى في تحليل مخلفات المبيدات تتمثل في عزلها وفصلها من المواد النباتية أو الحيوانية من خلال الاستخلاص بالمذيبات العضوية . يجب اختيار المذيب المناسب بحيث يكون قادرا على فصل المبيد بأسلوب مناسب وكفاءة مؤكدة ومستمرة دون أن يستخلص كميات كبيرة من المواد المتداخلة في العملية وكذلك تكون له المقدرة على تأدية العمل مع مجموعة كبيرة من النباتات (المحاصيل) بدون حاجة الى تحويلات جوهرية مع كل محصول . نود الإشارة في هذا السبيل الى ان عدم فهم القائم بالتحليل لأهمية وأصول عمليات الاستخلاص والعوامل المحددة للكفاءة وكذلك عدم المعرفة الى فضل في كثير من الحالات التي اضطلع بها المؤلف خاصة مع المبيدات الكلورينية ومازلت اذكر ما حدث عندما كنت استخلص المبيدات من التربة المعاملة باستخدام الكلوروفورم وتكوين كريات صغيرة جدا أدت الى نقص في كفاءة الاستخلاص بما لا يزيد عن ٤٠ ٪ . وبعد القراءات تؤكد ضرورة تجفيف العينات أولا ثم اجراء عمليات الاستخلاص بالمذيب المناسب . ويعتقد بعض الباحث امكانية اجراء الإستخلاص والتقدير مباشرة اذا كان الوسط هو الماء المحتوية على المبيد وهذا لا يصلح تحت جميع الظروف ومع جميع المبيدات . على الباحث ان يعرف معنى القطبية وكيفية اختيار المذيب والتوافق بين مخاليط المذيبات وعليه ان يلم كذلك بمواصفات ومحتويات العينات محل التحليل .

ولقد استحدثت التكنولوجيا الحديثة امكانية استخلاص العينات بطرق متقدمة جدا ومهولة وبسيطة ولكنها مكلفة في البداية بسبب ارتفاع اسعار الاجهزة ذات الكفاءة العالية وما يترتب عليها كما شاهدتها في معامل وزارة الزراعة الامريكية في ولاية ميرلاند عام ١٩٩٤ . وهناك طرق للتحليل والكشف عن مخلفات المبيدات لا تجرى فيها عمليات الاستخلاص . وليكن معلوما ان لكل طريقة مميزات وعيوب وعلى الباحث ان يركز على المميزات ويتلافى العيوب والاساس الذي لا يقبل الخطأ هو معدل الاسترجاع واي طريقة او مذيب تعطي معدل استرجاع عالية يمكن الوثوق فيها ولا يجب ان يكون العامل محددا لاختيار طرق قليلة النفقات خاصة اذا كنا بصدد الاضطلاع بمشكلة المخلفات في المواد الغذائية أو الهواء أو الماء وغير ذلك من المكونات البيئية ذات الصلة الوثيقة بصحة الانسان . لا يجب ان يختار المذيب بصورة عشوائية وإنما ينصح بالرجوع الى الجداول المعنية في كتب ونشرات تحليل المبيدات ..

* الاستخلاص بالمذيبات Solvent extraction :

في السنوات الاخيرة إستحدثت العديد من نظم استخلاص المبيدات من المحاصيل المختلفة . ولن نتعرض في هذا المقام لهذه النظم بالتفصيل ولكن سنكتفي فقط بالنظم والخطوات التي ثبت

نجاحها في تحقيق استخلاص معقول تبعاً لاحتياجات التحليل . كما سبق القول على القالب بالتحليل ان يراعى وبدقة فهم طريقة التحليل قبل ان يحدد ويشعر في الاستخلاص ، وعلى سبيل المثال اذا كان التحليل يشمل مبيد اللندين والطريقة المثبتة تعتمد على الكشف عن حلقات البنزين في المركب فلا يجب بل لا يمكن التفكير في الاستخلاص بالبنزين . ونفس الشيء مع الكلثين (وهو مبيد اكاروسى واسع الانتشار) يعتمد التقدير النهائي له على الكشف عن الكلوروفورم لذلك لا يمكن استخدام الكلوروفورم في الاستخلاص . ولا يمكن استخدام المذيبات الكلورينية في حالة الكشف عن وتقدير المبيدات الكلورينية العضوية في عمليات الاستخلاص .

اذا لم تكن بيانات نقاوة المذيبات العضوية التي تستخدم في الاستخلاص متوفرة ودقيقة يجب تقدير هذه المذيبات للتأكد من نقاوتها خاصة المذيبات الكلورينية مثل الكلوروفورم والميثيلين كلوريد ورابع كلوريد الكربون . لأن هذه المذيبات تكون الفوسجين وهو غاز سام لا يخشى من تداخله مع طريقة الكشف فقط ولكن يخشى من خطورته على القالب بالتحليل . المذيبات يجب ان تقطر في اجهزة زجاجية مع تفادى ملامستها لأية اغطية بلاستيكية أو مطاطية بخلاف التيفلون . المذيبات الاثيرية يجب ان تقطر لمدة قصيرة بما يتيح التخلص من البيروكسيدات . ولكن معلوما ان الاواني الزجاجية المحتوية على بيروكسيدات الاثير لا يجب ان يسمح بجفاف المستخلص فيها . لقد ثبت حدوث فقد كبير عند تجفيف المستخلصات المحتوية على المبيدات الكلورينية العضوية وكذلك الفوسفورية لقلة ثباتها .

لقد ثبت ان الاستخلاص بالمذيبات (الملول) Wet processing extracts ملائمة لاسترجاع معظم مخلفات المبيدات الموجودة في المستخلصات وهناك طريقتان لاستخلاص المبيدات فيما عدا الذائب في الماء تتمثل في استخدام مخلوط البنزين والكحول او الكلوروفورم من المواد الزراعية الخام او المجهزة . الأولى تتمثل في الاستخلاص بالرج مع المذيب وهذه تتميز بالمقدرة على استخلاص المبيد دون المواد المتداخلة وهي تفيد وينصح بها في حالة الخضر والفاكهة المحتوية على المبيدات السطحية التي لا تمتص في الداخل في الانسجة النباتية . تقطع العينات النباتية الى قطع صغيرة لا تتعدى البوصة كما في الكربن والتفاح والخوخ وتوضع في وحدة الاستخلاص مع حجم من المذيب يساوى او ضعف وزن العينة ويتم الرج لمدة نصف ساعة على الاقل وبعد ذلك يتم الترشيع على الورق او من خلال كبريتات الصوديوم اللامائية للتخلص من الماء . يجب التأكد من ان المواد الجافة المستخدمة لا تدمص المبيد .

الطريقة الثانية تتمثل بخلط العينة وتكسيرها مع مذيب او اكثر في الخلاط الكهربى وهي تصلح مع معظم المبيدات ولقد ثبت ان استخدام مذيبين افضل . يفضل ان يكون الخلاط مناسباً لاستخدام المذيبات العضوية (زجاج) ويتفادى الغطاء البلاستيك ، كما يجب ان يكون الخلاط غير قابل للكسر ويفضل العديد من البحوث تكسير العينات النباتية مع كحول الايثانول او الايزوبرانول قبل اضافة المذيب الغير قابل للخلط مع الماء والاخير يضاف في حدود ٢ مليلتر لكل جرام مادة نباتية ..

هناك طرق كثيرة للإستخلاص نذكر منها : (١) الطريقة العامة باستخدام زوج من المبيدات وهذه تتميز بالسرعة والكفاءة العالية فى الاسترجاع وعدم تكوين مستحلبات . لكل جزء عينة يضاف ٢ جزء بنزين واربعة اجزاء من الكحول الايثيلى او الايزوبروبيل ثم يتم الخلط فى الخلاط لمدة ٤ - ٥ دقائق ويسكب فى انابيب جهاز الطرد المركزى حيث تتركز المادة الصلبة فى قاع الانبوبة بعد الرج . تؤخذ الطبقة العليا السائلة فى قمع فصل سعة واحد لتر (٣٠٠ - ٤٠٠ مليلتر فى كل قمع) ثم يضاف حوالى ١٠٠ مليلتر من محلول ملحي مشبع لكسر المستحلبات ثم يضاف الماء حتى إمتلاء القمع تقريبا . يتم الرج حيث يفصل البنزين ويتم استبعاد طبقة الماء . يتم غسل مستخلص البنزين بالماء ويجفف بكمية من كبريتات الصوديوم اللامائية . ان استخدام كمية كبيرة من الكحولات تعمل على تجفيف العينات ومنع تكوين المستحلبات التى تسبب مشكلة كبيرة مع المحاصيل الرطبة . لا يفضل استخدام اقمار الفصل الاكبر من واحد لتر لأن كسرها يحدث إضراراً ويفضل ان يزود القمع بصنوبر من التيفلون . ولقد تأكد بالتجريب افضلية استخدام مذيبان فى الإستخلاص بالمقارنة بمذيب واحد فى استرجاع مبيد DDD من السيانخ المجهزة والمحفوطة فى العلب وكانت النظم بنزين منفرد بالمقارنة مع نظام البنزين - ايزوبروبيل .

فى حالة المبيدات الفوسفورية العضوية الجهازية والتى تمثل فى داخل الانسجة النباتية يستخدم مذيب الكلوروفورم لاستخلاص نواتج التمثيل بمعدل ٤ - ٥ اجزاء كلوروفورم لكل جزء نباتى . ان استخلاص المواد الدهنية والزيتية من اصعب المشاكل التى يجابهها القائم بالكشف عن مخلفات المبيدات لأن المهمة تتمثل فى فصل المبيد من الدهن أو الزيت . من احسن الطرق اجراء الاستخلاص بمذيب الاسيتونتريل فى الخلاط مع العينة ثم يجرى طرد مركزى للمخلوط ثم تفصل طبقة الاسيتونتريل ويعاد الإستخلاص للمواد الدهنية مرة اخرى بنفس المذيب ويفضل استخدام ٢ جزء من الاسيتونتريل لكل جزء مادة نباتية وتكرر عملية الاستخلاص ثلاثة مرات وهذه كافية لاسترجاع معظم المبيد . بالنسبة للفصل من دهن الحيوانات تتبع نفس الطريقة فيما عدا فصل الاسيتونتريل بالترشيح على ورق واتمان رقم (١٢) ونحصل على نتائج افضل اذا تم تبريد المذيب والعينة قبل الاستخلاص .

فى حالة بعض المواد الدهنية كشمع الافوكادو يتم الاستخلاص بالهكسان ثم يفصل بالطرد المركزى ويعاد الاستخلاص بالاسيتونتريل حيث ان الاستخلاص المباشر بالاسيتونتريل يسمح باستخلاص العديد من المواد الذائبة فى الماء . يمكن نزع المبيد من الاسيتونتريل باضافة الماء بحيث لا يزيد تركيز الاسيتونتريل عن ٢٠ ٪ ثم يستخلص المخلوط بالهكسان او الكلوروفورم او البنتان . فى بعض الحالات يكون الاسيتونتريل محتويا على كميات كبيرة من المواد الدهنية وهذه يمكن ازلتها بتخفيف الاسيتونتريل بالماء حتى تركيز ٦٥ ٪ ثم يمرر المخلوط خلال عمود من الالومينا .

هناك جدل كبير بين رجال تحليل المبيدات عن تخزين المستخلصات ويمكن ببساطة شديدة الرجوع لما نشره الباحث Patterson and Lehonan عام ١٩٥٣ من ان المحاليل المستخلصة

يجب ان تخزن تحت ظروف لا تسمح بحدوث اى تغير فى المبيد حتى يحين موعد التحليل النهائى . اذا لم يكن هناك مفر من التأخير فى التحليل يجب اجراء تجربة استرجاع recovery تحت نفس ظروف الاستخلاص . وحتى تحت الظروف المناسبة لا ينصح بتخزين المستخلصات لمدة طويلة . يجب ان تخزن المستخلصات على درجة الصفر المئوى فى زجاجيات محكمة الغلق حولها الومنيوم ويجب تجنب لف الاغطية بالشمع حيث انه يذوب بسهولة فى المذيبات العضوية وليكن معلوما انه حتى على درجات الحرارة المنخفضة يحدث فقد للمبيدات ومثال ذلك ما يحدث من فقد لمبيد السيفين فى الكلوروفورم على درجات الحرارة الواطية جدا ولو ان اضافة القليل من الايثانول يساعد فى حفظ السيفين من الانهيار . وخلاصة القول انه يجب تحليل المستخلصات فور اعدادها الا اذا كانت هناك ادلة موثوق فيها تؤكد ثبات المادة الفعالة للمبيد فى المذيب . يفيد جدا اتباع اسلوب التجريب باضافة كمية معلومة من المبيد الى كمية معلومة من المستخلص النباتى الخام منه (المقارنة) وتخزن العينة المقواة تحت نفس الظروف . ويتم تقدير معدل الاسترجاع . اما كمية المبيد المقوى تتوقف على الكمية المحتمل وجودها فى العينات وينصح بان تكون فى حدود ١٠ امثال الكمية التى تحملها حساسية الطريقة والجهاز .

* طرق تنظيف العينات Clean-up procedures :

مع زيادة عدد المبيدات وتعاظم دورها فى المكافحة والتوسع الخفيف فى استخدامها كان لا بد من تطوير طرق مختلفة للكشف عنها فى المكونات البيئية وكلما كانت الطريقة اكثر حساسية امكن الكشف عن الكميات الضئيلة وهذا يستدعى اجراء عمليات تنظيف وتخليص العينات من الشوائب والمواد المتداخلة . وكان المنطق القديم يقضى بأنه لزيادة حساسية التحليل يجب زيادة حجم العينة وهذا شئ ليس بالسهل او حتى فى المتناول فى كثير من الاحيان . ان معظم إن لم تكن جميع طرق التحليل تحتاج لتخليص العينات من الصبغات والدهون والشموع وغيرها وهناك طرق تنظيف متخصصة لكل مبيد وما يعنى هنا تناول طريقة أو أكثر عامة تفيد مع معظم انواع المبيدات فيما عدا تلك التى تذوب فى الماء .

معظم طرق التحليل الحديثة تعتمد على اجراء تفاعل مع بعض المواقع او المجموع الخاصة الموجودة فى جزئ المبيد ومثال ذلك لتكوين لون تتداخل المستخلصات النباتية والحيوانية بطريقتين الاولى ان المستخلص يمكن ان يمتع المبيد من التفاعل مع الجوهر الكشاف الملون او المكون للون او ان المستخلص نفسه قد يعطى لون او منتجات لونية عادة صفراء او بنية مع الجوهر الكشاف الملون . ولتحقيق حساسية الطريقة يجب التخلص من جميع المواد المتداخلة .

فى معظم الاحوال يتوقف نوع ودرجة التنظيف على طبيعة التحليل المطلوب فى المستخلص . اذا كان التحليل يتضمن طريقة يحدث معها تداخل من جميع المواد العضوية يجب ان يتوخى الحذر فى عمليات التنظيف ومثال ذلك عند تقدير مبيد ٢ و ٤ - د حيث يحدث التفاعل اللونى النهائى فى حامض الكبريتيك المركز الساخن . وعلى النقيض عندما يجسرى الكشف عن

ال د د ت في المستخلصات الخالية من الدهن بطريقة Schechter-Haller لا تحتاج الا لتنظيف بسيط. وخلاصة القول انه يجب اجراء عمليات التنظيف كلما كان ذلك ضروريا حيث انه حتى احسن الطرق في التحليل تزيل كمية من المبيدات . وأى طريقة تنظيف يجب الا يقل معدل الاسترجاع عن ٧٥ - ٨٠ ٪ من المبيد المضاف . يفضل ان يجرى اختبار اولي للتأكد من كفاءة عملية التنظيف بتجربة او تجربتين للاسترجاع ، وقبل البدء في تحليل العينات يجب مع كل سلسلة من العينات اجراء عينة او اثنتين مقواة باضافة كمية معلومة من المبيد للمستخلصات ، كما يجب اجراء تحليل مقارن قياسي بدون مادة نباتية او حيوانية بحيث تجرى عليها جميع خطوات التنظيف مع كل مجموعة من العينات محل التحليل .

* ١ - تركيز العينات في المستخلصات :

بعد استخلاص المبيد من المادة النباتية او الحيوانية يكون تركيز المبيد قليلا للغاية بدرجة لا تسمح بقياس كميته مباشرة أو يكون ذلك من الصعوبة بمكان لذلك وجب تركيز المبيد عن طريق التخلص من المذيب . التركيز والإزالة يمكن ان تتم بطرق متعددة ولكن تظل طريقتي التقطير والتبخير أكثرها سهولة من الناحية العملية .

* التبخير بالهواء Air evaporation في العديد من الحالات يتم التبخير بامرار تيار هواء دافئ على سطح العينة أو بامرار هواء نقي من خلال مرشح او غاز النيتروجين على العينة الموجودة في حمام مائي ساخن ويمكن الحصول على الهواء الساخن من خلال سخان كهربى مزود بمروحة أو بواسطة مجفف للشعر ، وإذا كان التبخير سيجرى بالهواء المار في انايبب المعمل يجب مروره خلال مرشح قبل الاستخدام مباشرة والمرشح يجب ان يختار بعناية بحيث يكون قادرا على ازالة الماء والزيت وجسيمات التراب . يجب الا تزيد درجة حرارة حمام الماء عن ٥٠ °م وفي بعض الحالات يجب ان تكون الحرارة أقل من ذلك . اخر كمية من المذيب بعد التبخير يمكن التخلص منها عن طريق تيار من الهواء الهادئ على درجة حرارة الغرفة . وليكن معلوما على سبيل التذكرة - أنه كلما كانت كمية المواد المستخلصة قليلة كلما كانت فرصة فقد الماء بالتبخير كبيرة . ومن المفيد اضافة بعض نقاط من ايثيلين جليكول او حامض الاستياريك او اى زيت ابيض حيث تعمل كمواد حافظة خاصة المبيدات القياسية لتقليل فقدها بالتطاير خلال المراحل الاخيرة من التبخير .

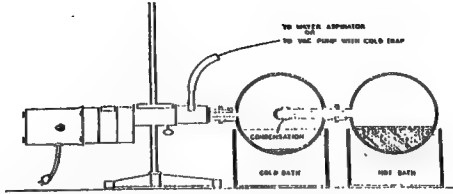
* هناك التركيز باستخدام وحدات كودرنا - دانيش kuderna - Danish وهو مناسب جدا لتركيز المستخلصات المحتوية على المبيدات والشكل التالى يعطى نموذج شائع جدا في معامل التحليل .



شكل (٢) : مبخرومركز ، عمود سيندر .

تملاً الوحدة الخاصة بالاستقبال المستخلص حتى العلامة الوسطية ثم تضاف قطعتان من مساعدات الفليان وتوضع الوحدة كلها في حمام بخار بحيث يغمس الجزء السفلى (الثلث على الأقل) في الحمام . توضع الوحدة في خزانة الغازات الملائمة والمجهزة خصيصاً لذلك حيث تسمح بخروج البخار بعيداً عن عمود سيندر synder column يمنع الفقد بسبب سريان الجسيمات في المذيب حيث تصطاد الجسيمات بواسطة المذيب العائد للمستقبلة . البخار الذي يتكثف يعود مرة أخرى الى جوانب القابلات وعندما يقل حجم السائل يتم غسل المبيد في المستقبل ثم ينقل كمياً إلى المستقبل . عندما يتم النقل يزال المستقبل من القابلة ثم يزال المذيب المتبقى باستخدام تيار هادئ من الهواء . ويجب ان تتأكد من كفاءة هذا المبخر عن طريق اضافة كمية معينة من المبيد في المذيب المراد تركيزه ونقدر معدل الاسترجاع .

* هناك التبخير بالتفريغ Vacuum وهو يستخدم غالباً في تركيز المحاليل الحساسة للحرارة . مبخر Rinco يستخدم الأساس الخاص بنشر فيلم رقيق من المحلول على سطح كبير، تدور ثم تعرض الى ضغط سالب . هذه الطريقة تناسب تركيز المستخلصات المحتوية على المبيدات . الشكل (٣) يعطى رسماً لهذا النوع من المبخر . عندما يستخدم في تبخير مركز ذو طبيعة مختلفة يجب ان تجرى تجربة استرجاع للتأكد من الكفاءة .



شكل (٣) : مبخر ريتو الدوار والذي يعمل بالتفريغ مع وحدة مكثف المذيب واسترجاعه .
يقترح للحمام الخاص بالتبريد :
(١) ثلج جاف وأسيتون ، (٢) ماء مثلج ، (٣) ماء حنفية مستمر (داغرى)

* هناك طرق ذات صفة العالمية للعمل الروتيني لتقدير المبيدات مثل الكروماتوجرافى الورقى والغازى وطرق التقييم الحيوية وهذه تتطلب مستخلصات خالية تماما من المواد المتداخلة . لقد ثبت الكفاءة العالية لتنظيف العينات المحتوية على المبيدات تمكن من الحصول على مستخلصات خالية من الصبغات والدهون والشموع . توضع العينة فى البداية فى البنزين فيما يسمى بالطريقة المبتلة wet benzene والتي طورت بواسطة Cassiol وآخرون (١٩٦٠) ثم تمرر بعد ذلك فى عمود يحتوى على البولى ايثيلين - الومينا . طريقة البنزين المبتلة تعتمد على ادمصاص الصبغات المتداخلة على الكربون النشط الموصول بالحامض والأنكلاى . يستخدم مذيب البنزين المشبع مع الماء فى حالة المستخلصات النباتية . الماء يعمل على تحوير عمل مواد ادمصاص بحيث تصبح غير قادرة على ادمصاص المبيد . بسبب اهمية هذه الطريقة وللتاريخ حيث مر عليها ما يقرب من ٣٥ عاما حتى الآن نشير اليها بالتفصيل : تخلط خمسة اجزاء بالوزن من الأنكلاى مع جزء من الفحم المنشط . يتم تنشيط الفحم بالتسخين مع التقليب لكميات ٤٠٠ مليلتر فحم مع ١٠٠ مليلتر ماء مع ٣٠٠ مليلتر حمض كبريتك مركز عالى النقاوة لمدة ١ - ٢ ساعة فى حمام بخار . يتم ترشيح العجينة من خلال قمع بوضر ثم تغسل بالماء الساخن حتى تتم معادلة المرشح وتناكد من ذلك باستخدام دليل ميثيل البرتقالى . يتم التجفيف لمدة ٤٨ ساعة فى فرن مضبوط على درجة ١٣٠ م . تبرد ثم ترج حتى يتكون المسحوق . يتم تجهيز البنزين المبتل برج البنزين مع ماء مقطر ثم نستبعد طبقة الماء . يتم إستخلاص العينة بالخلط فى الخلاط مع البنزين والكحول ثم يطرود المخلوط فى جهاز الطرد المركزى لفصل وإزالة المواد الصلبة ثم يزال الكحول من البنزين بالفسيل بالماء فى قمع الفصل . لا يجب ان يجفف المستخلص قبل الاستعمال . يضاف الى مستخلص البنزين فى ٥٠٠ مليلتر دورق معيارى ١٠٠ جم من المادة النباتية ثم يضاف ١٠ جم من مخلوط ادمصاص ثم يرج القابلة لمدة ١,٥ دقيقة . بعد ان يستقر مخلوط ادمصاص يستبعد محلول البنزين خلال ورق ترشيح وإتمان رقم ١٢ فى دورق معيارى سعة ٥٠٠ مليلتر . يغسل مخلوط ادمصاص خمسة مرات باستخدام ٥٠ مليلتر من البنزين المبتل وفى كل مرة يستبعد

الطبقة الراققة فى دورق معيارى . يتم تبخير البنزين حتى يصل حجمه الى ٣٠ مليلتر باستخدام عمود سنيذر ذو الكرات الثلاثة هنا يصبح المحلول جاهزا للتحليل او لعمليات تنقية اكثر . ولقد اتضح ان هذه الطريقة غير ضرورية فى جميع الاحوال بينما البنزين المبزل يمنع ادمصاص المبيدات مع الكربون .

* طريقة عمود البولى ايثلين - الومينا .. درس الباحثان حوزر وزينديك عام ١٩٥٢ التوزيع الجزئى للعديد من المبيدات بين الهكسان والاسيتونتريل . ولقد وجد ان الدهون والشموع تبقى فى طبقة الهكسان بينما تتوزع معظم المبيدات فى طبقة الاسيتونتريل . وفى عام ١٩٥٥ قام الباحث Bovin وزملاؤه باستبدال الهكسان بالبارافين المحمل على اكسيد الالومنيوم فى عمود وبعد ذلك تتم ازالة المبيدات من العمود باستخدام مخلوط ٦٥ : ٣٥ اسيتونتريل : ماء بينما تبقى الشموع والدهون على المادة الادمصاصية فى العمود . ولسوء الحظ ان بعضا من البارافين يزاح فى العينة ويلوثها . وبعد ذلك استبدل Hoskins وزملاؤه عام ١٩٥٨ البارافين بالالومينا المغلفة بالبولى ايثيلين . هذه الطريقة تزيل معظم الدهون والشموع من المستخلص مع فقد ضئيل جدا فى كمية المبيد . العديد من المبيدات تزال من العمود باستخدام ٦٥ ٪ اسيتونتريل . ولن اكتب هذه الطريقة بالتفصيل منعا لضياع الوقت وعلى الباحث ان يبذل الجهد ويبحث فى المراجع للحصول على الطرق المناسبة بما يمكنه من تحقيق أعلى معدلات استرجاع .

* فى عام ١٩٦١ تم تطوير طريقة التنظيف باستخدام عمود سليكات الالومنيوم (Coulson وآخرون ١٩٦١) واستخدمت فى تحليل المبيدات فى المستخلصات النباتية . عندما حدثت نتائج متضاربة مع استخدام عمود الفلوروسيل قام الباحث بتجهيز عمود سليكات الالومنيوم من كلوريد الالومنيوم ورابع كلوريد السليكون . فى هذه الطريقة يتم استخلاص العينات بالطرق المناسبة ثم يسخر المذيب . يذاب الجزء الصلب المحتوى على المبيدات فى ١٠٠ مليلتر Skellysolve - B ويجهز العمود بطول عشرة بوصات وقطر داخلى ٨ ملليمتر ويجهز عمودين من التيفلون المملوء باربعة بوصات من سليكات الالومنيوم ٦٠/٤٠ مش مع طبقة ١ بوصة من كبريتات الصوديوم اللامائية فى قمة العمود . وهذه تمثل من ٣ - ٤,٥ جم من سليكات الالومنيوم . يوضع المذيب SK. B المحتوى على المبيد مباشرة على العمود . يمكن ازالة اللدئين وال د د ت باستخدام المذيب Skel- B الذى جمع مع مذيب العينة ، اما معظم المبيدات الكلورينية الأخرى تزاح بواسطة ١٠٠ مليلتر من الداى ايثيل ايتير فى الـ Sk. B اذا لم يكن هناك داعى للفصل يمكن ازالة مباشرة باستخدام ١٠ ٪ داى ايثيل ايتير فى الـ Sk. B . يتم تركيز المترشح باستخدام مبخر كودرنا - دانيش ثم التحليل بعد ذلك . عندما نشرت هذه الطريقة لم تكن هناك بيانات كافية تؤكد امكانية هذا المذيب على ازالة المبيدات الفوسفورية العضوية من العمود وبظل الفصيل فى كفاءة أى طريقة هو معدل استرجاع العينة النقاة . ولقد طور coulson وزملاؤه عام (١٩٦١) هذه الطريقة لتحليل المبيدات الكلورينية فى الزبد حيث يتم الفصل الجزئى للمبيدات فى الاسيتونتريل من محلول الهكسان للزبد ثم تعاد لمذيب SK. B ثم يمسرس فى عمود سليكات الالومنيوم .

* طرق عامة للفصل General separation procedures :

لقد نوقشت العديد من طرق الفصل والتنظيف والعديد منها اثبت كفاءة عالية وتم تحويله ليناسب نوع واحد من المبيدات ، وعلى الباحث ان يتأكد من كفاءة العملية عند العمل على مركب جديد من خلال العينات المقواة .. ومن هذه الطرق :

*** التوزيع الجزئي partition distribution ..** حيث يستخدم نوعان من المبيدات الغير قابلة للامتزاج والمبيد يجب ان يكون قابلا للذوبان في كلا المذيبين بمعدل توزيع جزئي أكبر من (١) اما المواد او المستخلصات الخاصة بالمواد الحيوية يجب ان يكون معامل التوزيع لها اقل من (١) . المذيبان يجب ان يكونا غير قابلين للذوبان ولهما نقط غليان منخفضة ومن ثم يمكن فصلهما من المبيد . المذيبان يجب ان يختلفا في الكثافة بحيث ان مخلوطهما يكون طبقتان .. وتوضح ذلك نقول ان السيكلوهكسان والاسيتونتريل غير قابلين للامتزاج حيث ان كثافتهما على درجة حرارة الغرفة تجعلهم لا يكونا طبقتان . لقد درس ريدلي (١٩٥٢) التوزيع الجزئي بين الاسيتونتريل والهكسان العادي حيث يتم استخلاص النسيج النباتي بالهكسان العادي ثم يتبع ذلك استخلاص بالاسيتونتريل لطبقة الهكسان . تنتقل المبيدات من طبقة الهكسان العادي الى الاسيتونتريل بينما تظل معظم الدهون والزيوت والشموع في طبقة الهكسان . تنقل طبقة الاسيتونتريل الى قمع فصل نظيف ثم يضاف الماء والهكسان التنظيف ثم برج القمع . الآن اصبحت المبيدات اكثر ذوبانا في الهكسان عنه في طبقة الاسيتونتريل والماء ، ثم تستبعد طبقة الاسيتونتريل - الماء ثم تجفف طبقة الهكسان العادي وتخزن للتحليل .

يمكن القول ان الهكسان والاسيتونتريل يمثلان زوجان مناسبان من المبيدات تستخدم لفصل المبيدات من العينات النباتية والحيوانية ... والجدول التالي يعتبر نموذج ولو انه قديم جدا منذ عام ١٩٥٢ (ريدلي وجوز) لتوزيع المبيدات بين طبقتي الاسيتونتريل والهكسان . وقد وجد Bureb fied and storrs (١٩٥٣) افضلية لمذيب ن.ن - داي ميشيل فورماميد عن الاسيتونتريل في فصل ميدي ال- ددت واللدندين . ويفضل استبعاد النيتروميثان من ازواج المبيدات لخطورة الانفجار في الوسط القلوي . ونفس الشيء مع مركبات الايثيلين والفورفورال والفينول التي قد تتداخل مع التحليل اللوني للمبيدات .

*** هناك طريقة فصل الدهون والشموع عن المبيدات من خلال بلورة الشموع والدهون الموجودة في المستخلصات النباتية وهذا يتوقف على عدم ذوبانها في الاسيتون البارد . يتم تبخير عينة الاستخلاص ثم يذاب الراسب في حجم صغير من الاسيتون الذي يبرد مما يؤدي الى ترسيب الدهون والشموع دون تكسير للمركب . والمواد المفسولة تزال بالتريشيع تاركة المبيد في مرشح الاسيتون ولقد استخدمت هذه الطريقة لتحليل الملوكسي كلور . ولقد صمغ الباحثان Anglin and Mckinley**

جدول (٣) : توزيع المبيدات بين الـاستوتيريل والهكسان على درجة حرارة الغرفة .

المبيد	نسب المبيدات : الحجم استوتيريل وهكسان			
	٣ : ١ (أ) (هـ)	٣ : ١ (أ) (هـ)	٣ : ١ (أ) (هـ)	٣ : ١ (أ) (هـ)
ريلدان	٩٨ ٢	٩٦ ٤	٩١ ٩	٨١ ١٩
ميثوكسى كلور	٩٨ ٢	٩٦ ٤	٩١ ٩	٨١ ١٩
باراثيون	٩٦ ٤	٨٧ ١٣	٧٠ ٣٠	٦٨ ٣٢
لندن	٩٤ ٦	٨٦ ١٤	٧٠ ٣٠	٦٨ ٣٢
كلوردين	٧٨ ٢٢	٥٩ ٤١	٤١ ٥٩	٣٤ ٦٦
د د ت	٧٥ ٢٥	٥٧ ٤٣	٤٠ ٦٠	٣٢ ٦٧

طريقة الـاستوتون على درجة - ٧٠° م مع عمود الفلوروسيل ويمكن التوصية بهذا الاسلوب لتحليل الـ ددت والمركبات الشبيهة له ويصلح مع العنيد من المحاصيل .

* هناك طريقة التنظيف من خلال عملية التصبين وهى محدودة الكفاءة-Saponification حيث ان هناك القليل من المبيدات تقاوم التحلل فى الوسط القلوى مثل الـالدين والـديلدرين والـاندين حيث يمكن تقديرها بالطريقة اللونية بطريقة الفينيل آزيد .

* من الممكن التخلص من المواد المتداخلة مع بعض المبيدات من خلال عمليات الأكسدة المتحكم فيها بشرط ان يكون المركب ثابتا تحت ظروف الأكسدة بينما المواد المراد التخلص منها تكون قابلة للأكسدة . جميع طرق الأكسدة يجب ان تؤكد كفاءتها من خلال العينات المقواة قبل ان تستخدم فى الكشف عن المخلفات . من احسن النجاحات فى هذه الطريقة ما جرى على المبيدات الفوسفورية العضوية حيث تتأكسد الى الفوسفات غير العضوى بواسطة احماض البيركلوريك والناتج يقدر باجراء تفاعل لونى مع الموليبيدات .

* يمكن استخدام طريقة الاختزال للتخلص من الصيغات النباتية الموجودة فى المستخلصات . يتم تخيير المذيب ثم يذاب الراسب فى الميثانول ثم يشبع المحلول بأكسيد الكبريت . يخمر الميثانول ثم يضاف الماء ويعاد إستخلاص المبيد ثانية فى مذيب بترولى . من الأمثلة الناجحة اختزال مجموعة النيترو فى جزئى مبيد الباراثيون وتحويلها الى مجموعة أمينو ثم تخيير مجموعة النيترو الغير ذائبة فى الماء الى مركب أمينو يذوب فى الاحماض المخففة وهذا يصبح الباراثيون المختزل متحررا من بقايا المواد المتداخلة الذائبة فى المذيب .

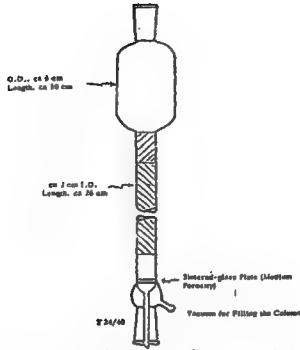
* يمكن تطوير طريقة التقطير البخار steam distillation لتنظيف العينات المحتوية على المبيدات . يمكن التخلص من بعض الزيوت الطبيعية والشموع بالمتقطر البخارى ثم تفصل من

المبيدات الغير متطايرة الموجودة معها . بعض المبيدات تحلل مائيا لتكوين امينات عطرية أو فينولات . معظم الفينولات تتطاير بالبخار فى المحاليل الحامضية بينما الامينات العطرية تتطاير فى الوسط القلوى . يمكن استخدام هذه الطريقة للتخلص من المبيد او نواتج تحلله المائية من الانسجة النباتية ومن ثم تزيد كفاءة وحساسية طريقة التحليل .

* هناك التنظيف بطريقة الكروماتوجرافى chromatography وهو يشمل كروماتوجرافى الادمصاص adsorption والكروماتوجرافى الورقى paper وتبادل الايونات بالراتنجات ion-exchange resins .. وسنشير فى عجالة بسيطة لهذه الطرق :

** بالنسبة لكروماتوجرافى الادمصاص ثبت كفاءة العديد من مواد الادمصاص مثل اكسيد الألومنيوم والفلوروسيل والأنكلاى وحمض السليسيك فى تنقية المستخلصات قبل التحليل . ولقد بدأت اول محاولة ناجحة عام ١٩٥٩ بواسطة Mckinley and Mahon حيث استخدموا عمود الفلوروسيل مع مذيبات البتروليم ايثير والاثيل ايتير للازاحة وتمكنا بذلك من فصل المبيدات من المستخلصات المحتوية على الدهون . ولقد استخدم O'Donnell وآخرون عام ١٩٥٤ نظام مزدوج مكون من الادمصاص فى كأس الاستخلاص ثم عمود الكروماتوجرافى فى تقدير مبيد الالدرين فى البداية يعامل مستخلص الهكسان برجه مع خليط الكربون - ايثانول - حامض سيليسيك متبوعا بعمود كروماتوجرافى مع الاناسول . ولقد استخدم نفس البحوث اكسيد الماغنسيوم (الماغنيزيا) المسحوقة فى فصل المواد النباتية من مبيد الالدرين . ويعيب الماغنيزيا ضرورة معايرتها قبل اى تحليل ومن الشائع استخدام الفحم المنشط والكربون فى تنقية المستخلصات قبل التحليل . ومن الضرورى معايرة كفاءة مواد الادمصاص والتأكد من خلال تجارب العينات المقواة ، لأن معظم المواد الادمصاصية تحتاج لمعايرة مستمرة بعد التخزين . وكفاءة مواد الادمصاص تقاس بحجم المزاح التى تعطى أقصى معدل استرجاع مع اقل فقد فى المبيد . المعايرة قد تتطلب وقتا كبيرا خاصة اذا كان تقدير المبيد يتم فى خطوات متتالية بعد الكروماتوجرافى . يمكن الكشف عن مخلفات المبيدات بعد ازاحتها من العمود بالطرق الحيوية باستخدام حشرة الدروسوفيلا او الذبابة حيث يختر المذيب ويعرض الحشرات لفيلم المبيد ولقد وجد ان معظم الحشرات تقتل بتركيزات فى حدود ١٠٠ ميكروجرام .

من الطرق التى يمكن ان تبسط معايرة كفاءة العمود اضافة كمية من المبيد المعلم بالاشعاع فى مكان معين من الجزئ إلى المستخلص ثم تجرى عملية الفصل الكروماتوجرافى ويجمع القططات ويخبر ويقدر المبيد فى كل قطعة . وهناك العديد من مواد الادمصاص التى ثبت كفاءتها مع المبيدات مثل الالومينا المنشطة والكربون والأنكلاى والسيليكا جيل واكسيد الماغنسيوم والالومينا يولى ايشيلينى . ولقد وجد ان الانبوبة الموضحة فى الشكل التالى مناسبة جدا لوضع مادة الادمصاص . وهى قد تستخدم مع التفريغ أو الضغط الخفيف . فى حالة الحجوم الصغيرة من المذيبات التى تقل نقطة غليانها عن ١٠٠° م يساعد الضغط فى الحصول على محلول جيد . يمكن تخزين مواد الادمصاص فى اوانى مغلقة تفتح عند الحاجة للعمل فقط . يجب الكشف عن سلوك



شكل (٤) : انبوبة الكروماتوجرافي المناسبة للعمل مع التفريغ أو الضغط

المادة الادمصاصية على فترات منتظمة وكذلك يجب الكشف عن سلامة المبيدات للتأكد من سلامتها لمادة العمود .

يمكن للكروماتوجرافي الورقي ان يعمل بنظام الفصل الجزئي حيث تعضد شرائط أو ألواح الورق بالوسط الغير متحرك بينما قوى الخاصة الشعرية تتحكم في حركة المذيب على الورقة . الاستخدام الاساسي للكروماتوجرافي الورقي يتمثل في فصل المبيدات بعد تنقية المستخلص . يفضل بل يجب تنقية المستخلص قبل اجراء عملية التنقيط على الورق . في احد التقديرات تم تنقيط مستخلص الاسيتون من جسم الصرصور على الورق وتم تنقية المستخلص بازاحة مذيب الاسيتونتريل لمسافة قصيرة ثم تزال الدهون الموجودة في البقعة الاصلية وبعد ذلك يجرى الكروماتوجرافي بالمذيب المناسب .

في السنوات الاخيرة تم تطوير جهاز الكروماتوجرافي الغازي لفصل وتعريف وتقدير المبيدات . ولقد قام Zweig وآخرون (١٩٦٠) بتمرير المستخلص خلال الجهاز ثم قاموا بامتصاص أو تجميد المبيد الخارج مع تيار الغاز المتدفق ثم يقاس المبيد باستخدام طيف الاشعة فوق الحمراء أو بأى وسيلة كيميائية أو حيوية . وتنصح في هذا المقام بضرورة تنظيف العينات قبل حقنها في الكروماتوجرافي الغازي وهذا يعطى فصل جيد ويطيل من عمر العمود .

* إن إستخدام نظام تبادل الايونات بالراتنجات محدود للمركبات التي تتفاعل مع المركبات الايونية . وقد قام بعض الباحث باستخدام الراتنجات Dowex لادمصاص الامينو ترايازول من مستخلص الميثانول والماء للنسيج النباتي . الراتنجات الانيونية تستخدم احيانا لادمصاص مبيدات الحشائش الحامضية من المستخلصات المائية للانسجة النباتية مثل ٢ ، ٤ - د . معدل الاسترجاع الواطى قد يرجع الى التفاعل الغير عكسى للمادة الحامضية مع الراتنج .

المراجع

- Anglin, C., and McKinley, W. P. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 186.
- Burchfield, H. P., and Storrs, dE. E. (1953). Contribs. Boyce Thompson Inst. 17, 333.
- Cassil, C. C., Cortner, W., and Stoner, H. d(1960). Private communication.
- Coulson, D. M., and Cavanach. L. A. (1961) 140th dNatl. Am. Chem. Soc. Meeting, Chicago, September.
- Coulson, D. M., Cavanagh, L. A., DEVries J. E., and Walther, B. (1960). J. Agr. food Chem. 8, 899.
- Coulson, D. M., Cavanagh, L. A., and Wilton, V. (1961), 18th Intern. Congr. Pure and Appl. Chem., Montreal, August.
- Craig, L. C., and Craig. D. (1950). In "Technique of Organic Chemistry" (Weissberger, A., ed.), Vol. III. Chapter IV. Interscience, New York.
- Erwin, ;W. R., Schiller, D., and Hoskins, W. M. (1955)k, J. Agr. Food Chem. 3, 676.
- Fairing, J. D., and Warrington. H. P. (1950). In Advances in Chem. Ser. 1. p. 260.
- Gunther, F. A., and Blinn, R. C. (1955). "Analysis of Insecticides and Acaricides," pp. 215-218. Interscience, New York.
- Hoskins, W. M., Erwin. W. R., dMiskus, kR., Thornburg, W. W., and Wer-um, L. N. (1958). J. Agr. Food Chem. 6, 914.
- Jones, L. R., and Riddick, J. A. (1952). Anal. Chem. 24, 569.
- Major. kA., Jr., and Barry, H. C. d(1960). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 44, 202.
- McKinley, W. P., and Mahon. J. H. (1959). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 42, 727.
- Menn, J. J., Eldefrawi, M. E., and Gordon, H. T. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 41.
- Mills, P. A. (1959). dJ. Assoc. Offic. Agr. Chemists 42. 784.
- O'Donnell, A. E., Neal, M. M., Weiss, dsF. T., BAnn. J. M., DeCino. T. J., and Lau, S. C. (1954), J. Agr. Food Chem. 2. 373-80.
- Patterson, W. I., and Lehman, A. J. d(1953), Assoc. Food & Drug Officials U.S. Quart. Bull. 17, 3-12.

Rosenthal, I., Frisone, G. J., and Gunther, F. A. (1957). J. Agr. Food Chem. 5, 514-17.

Schechter, M. S., and Hornstein, I. (1952). Anal. Chem. 24, 544-8.

Storherr, R. W., and Burke, J. (1960). In "Determination of 3-Amino 1, 2, 4-Traizole in Crops." div. of Food & Drug Admin., U.S. Dept. of Health. Education and Welfare, Washington, D. C.

Zweig, dG., Archer, T: E., and Rubenstein. kD. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 403-5.

Zweig, G. (1960). Private communication.

هذه المراجع بالرغم من مرور فترة طويلة تعدت الثلاثين عاما الا انها ضرورية ، ولكي
تكتمل الصورة امام اى باحث عليه الرجوع الى المرجع الاساسى والرئيسى فى تحليل
المبيدات :

Pesticide Analytical Manual

Vol. 1, Foods and Feeds.

الجزء الخاص بالاستخلاص والتنظيف وفيها قائمة بالمراجع الخاصة بهذا الجزء لكل نوع
من الغذاء .

(١) المبيدات الكلورينية (الغير ايونية)

* طرق عامة للأغذية الدهنية :

Johnson, L., JAOAC 48, 668-675 (1955)

Wells, C., JAOAC 50, 1205-1215 (1967)

Carr. R. L., JAOAC 53, 152-154 (1970)

Carr. R. L., JAOAC 54, 525-527 (1971)

Krause, R.T., JAOAC 56, 721-727 (1973)

Sawyer, L. D., JAOAC 56, 1015-1023 (1973)

Sawyer, L. D., JAOAC 61, 282-1291 (1978)

* طرق عامة للأغذية الغير دهنية :

Krause, R. T., JAOAC 49, 460-463 (1966)

Gaul. J., JAOC 49, 463-467 (1966)

Davidson, A. W., JAOAC 49, 468-472 (1966)

Wells, C., JAOAC 50, 1205-1215 (1967).

Burke, J. A., JAOAC 51, 311-314 (1968)

Burke, J. A., JAOAC 53, 355-357 (1970)
Burke, J. A., JAOAC 54, 325-327 (1968)
Krause, R. T., JAOAC 56, 721-727 (1973)
Finsterwalder, K. W., JAOAC 59, 169-172 (1976)

*** طرق تقدير احماض الكلوروفينوكسى والبتاكلوروفينول :**

Hopper, M. L., J. Agr. Food Chem. (1982) 30, 1038-1041.
Hopper, M. L., LIB 2306, April 30, 1979.
Richelleu, M. E., Griffitt, K.R. and Cline, K., Private communication.
April. 1982.
Griffitt, K.R. Cline, J. K., and Schmidt, R. J. LIB 2695. Feb. 15. 1983.
Hopper, M. L., J. Agr. Food Chem. (1987) 35, 1265-269.

(٧) المبيدات الفوسفورية المعنوية :

*** طرق تقدير الأغذية الدهنية**

تستخلص الدهون بواسطة الفصل الجزئى بالاسيتونتريل وتجرى التقية فى عمود الفلوروسيل
والمرجع هو :

231.101 References. Official Methods of Analysis of the Association of
Official Analytica Chemists 11th Eddition, Section 29.001, 29.005,
29.008 , 29.010-29.014 , 29.017. The AOAC method for fatty foods is
officidal only for certain organochlorine and not for organo-
phosphorous compounds.

*** طرق تقدير الاغذية الغير دهنية :**

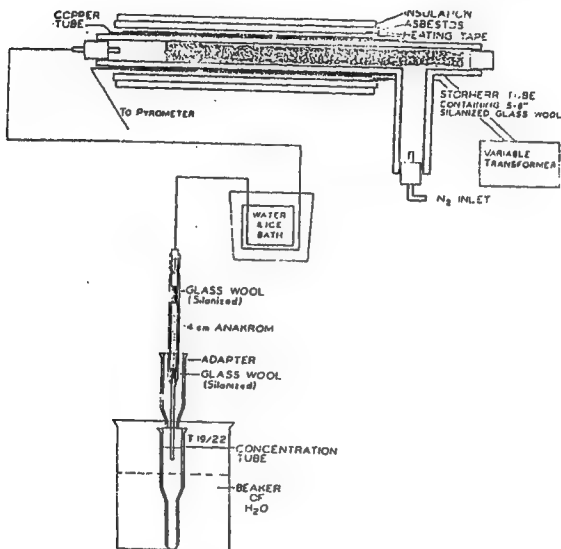
الاستخلاص بالاسيتونتريل - الاستخلاص بالماء / الاسيتونتريل - النقل الخاص
بالاسيتونتريل المائى الى البتروليم ايثر والتنظيف فى عمود الفلوروسيل والمرجع هو :

232.101 References. Official Methods of Analysis of the Association of
Official Analyti Chemsis 11the Edition, Section 29.001, 29.002, 29.005,
29.008 , 29.009 , 29.012-29.014 , 29.0

Studies or recommendations leading to AOAC official status :

Wassel, J. R., JAOAC 50, 430-439 (1967)
Wells, C. E., JAOAC 50, 1205-1215 (1967).
Burke, J. A., JAOAC 54, 325-327 (1971)

يمكن إجراء عملية تنظيف العينات المحتوية على المبيدات الفوسفورية بعملية التقطير Sweep - Co - distillation والمرجع الخاص بها والمبيدات التي تنجح معها وكذلك الجهاز موضح في الشكل التالي :



232.201 Reference, Changes in Official methods of Analysis, JAOAC 51, 482-485 (1968). paragraph 24 (5). Method is official, first action, for parent organophosphate residues of carbophenothion, diazinon, ethion, malathion, methyl parathion, and parathion in kale, endive, carrots, lettuce, apples, potatoes, and strawberries (fresh or no-sugared frozen).

- (1) Storherr, R. W. and Watts, R. R., JAOAC 48, 1145-1158 (1965)
- (2) Watts, R. R. and Storherr, R. W., JAOAC 48, 1158-1160 (1965)
- (3) Storherr, R. W. and Watts, R. R., JAOAC 51, 1662-665 (1968)

يمكن إجراء التنقية بعمود الكربون Carbon column والمرجع :

232.301 References. Storherr, R. W., Ott, P., and Watts, R. R., JAOAC 54, 513-516 (1971) Official Methods of Analysis of the Association of Official analytical Chemists 12th Edition. Section 29.002 (k), 29.005 , 29.008 (d) (1) or (2) , (e) , (f), and (k) , 29.001 (a) , (b) , 29.033 , 29.037 , 29.039 (i) , (j) and (k) ; Changes in Methods 29.034 (e), JAOAC 58, 397 (1975).

Study leading to AOAC official status :

Laski, R. R., JAOAC 57, 930-933 (1974).

(٣) مخلفات المبيدات العضوية النيتروجينية :

* في المواد الغذائية الغير دهنية .

يتم الاستخلاص بالاسيتون والمرجع هو :

242.101 References. Luke, M. A., Froberg, J.E., and Masumoto, H. T., JAOAC 58 1020-1026 (1975).

(٤) مخلفات مبيدات ن - ميثيل كاربامات :

يتم الاستخلاص بالميثانول ويتم الفصل الجزئي في الاسيتونتريل في وجود كلوريد الصوديوم . يتم التخلص من مرافقات الاستخلاص بالفصل الجزئي في البتروليوم ايثر . المخلفات تفصل جزئيا في الميثيلين كلوريد في وجود محلول كلوريد الصوديوم وبعد ذلك يجفف محلول الميثيلين كلوريد - اسيتونتريل حتى الجفاف ثم تجرى عملية تنقية اضافية باستخدام عمود الكربون والسيليت والازاحة بمحلول التولوين - اسيتونتريل . والمرجع هو :

Extralct residues from product with methanol



Partition residues into acetonitrile



shake with petroleum ether; discard petroleum ether



Partition residues into methylene chloride; evaporate



Cleanup on charcoal-silanized Celite



column; elute with toluene-acetonitrile



Evaporate eluate; dissolve in methanol



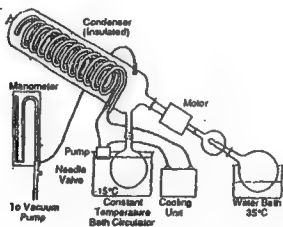
HPLC determination;

reverse phase separation with in-line hydrolysis and derivatization, and determination by fluorescence detector

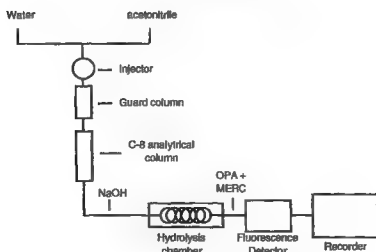
References :

- (1) Krause, R.T. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63, 1114-1124 (1980)
- (2) Krause, R.T. J. Chromatogr. Sci. 16, 281-288 (1978)
- (3) Krause, R.T. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68, 726-733 (1985)
[collaborative study]
- (4) Krause, R.T. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68, 734-741 (1985)
- (5) Krause, R.T. J. Chromatogr. 158, 615-624 (1979)
- (6) Krause, R.T. J. Chromatogr. 442, 333-343 (1988)

والشكل التالي يوضح جهاز التبخير الدوراني (الدوار) الخاص بمخلفات الكاربامات ونواحي
تمثيلها على ان يتم الكشف والتقدير النهائي باستخدام جهاز HPLC



Vacuum Rotary Evaporator



HPLC System

الجدول التالي يوضح قائمة الكيميكاليات التي يتم الكشف عنها بكاشف الفلورسنس مع عمليات التحلل المائي والتحول التي تلي التفتية في الاعمدة الكروماتوجرافية .

Chemicals Determined by Fluorescence Detector

Follow9ing Post-Column Hydrolysis and Derivatization ^{1,2}

EPA/FDA		C.8 Column Retention Time Relative to		Response (ng to cause 50% FSD) ³
Std. No.	Chemical	Recovery	Carbofuran	
60	aldicarb ⁴	C	0.83	14
62	aldoxycarb ⁴ (aldicarb sulfone)	C	0.40	9
61	aldicarb sulfoxide	P (50-60%)	0.33	9
472	bendiocarb	C	1.00	10
0791	BPMC	C	1.47	10
960	bufencarb ⁴	C	1.44 ⁵	19
F758	butocarboxim	C	0.75	15
1060	carbaryl ⁴	C	1.06	7
1040	carbofuran ⁴	C	1.00	10
2573	dioxacarb	C	0.67	15
F864	ethiofencarb	P (70-82%) ⁶	1.10	15
4062	isoprocarb	C	1.13	8
4500	methiocarb ⁴	C	1.26	10
F600	methiocarb sulfone	C	0.79	11
F599	methiocarb sulfoxide	C	0.64	12
4520	methomyl ⁴	C	0.46	10
F827	metholcarb	C	0.85	10
5186	oxamyl ⁴	C	0.44	10
5752	promecarb	C	0.56	10
440	propoxur	C	1.98	8
F681	thiodicarb	P (40-60%) ⁷	0.99	11
F430	trimethacarb, 2,3,5-isomer	C		
F431	trimethacarb, 3,4,5-isomer	C		
F922	XMC	C	1.06	10
1041	3-hydroxycarbofurna ⁴	C	0.60	10
	3-hydroxymethyl-2,5-dimethyl- pheny methylcarblamate ⁸	P (ca 70%)		
	3-hydroxymethyl-4,5-dimethyl-			

pheny methylcarblamate⁸ C

3-hydroxymethyl-3,5-dimethyl-
pheny methylcarblamate⁸ C

-
- 1 . Detector excitation : 340 nm. 15 n m slit width; detector emission ; 455 nm. 12 nm slit width.
 - 2 . Codes : C; complete (> 80%) recovery; P : partial (< 80%) recovery, with apporximate percent recovery given in parentheses, when known.
 - 3 . When detector sensitivity is adjusted to provide 50% FSD to 10 ng carbofuran.
 - 4 . Chemical for which method 242.2 is official AOAC on grapes and potatoes.
 - 5 . Major peak.
 - 6 . Breaks down to two peaks during analysis.
 - 7 . Thlodicarb breaks down partially to methomyl during analysis. Complete recovery is calculated when methomyl level is included.
 - 8 . Metabolites of trimethacarb.
-

الجدول التالي يوضح قائمة المركبات الكارباماتية التي يتم الكشف عنها بدون اجراء عمليات التحول بعد التنقية :

Naturally Fluorescing Chemicals Determined by
Fluorescence Detector Without Post-Column Derivatization¹²

EPA/FDA Std. No.	Chemical	Recovery	Retention Time Relative to Carbofuran	Excitation Wavelength nm	Emission Wavelength nm
1060	carbaryl	C		288	330
1040	carbofuran	C		288	330
2573	dioxacarb	C		265	294
4062	isoprocarb	C		264	292
4880	naphthalene acetamide	P (77) ³		288	330
F214	naphthaleneacetic acid methyl ester	C		288	330
2010	napropamide	C		288	330
5520	phosalone	C		288	330
F642	phosalone oxygen analog	C		288	330
5620	piperonyl butoxide	C		288	330
440	propoxur	C		276	330
	triasulfuron ⁴		0.81	288	330
	triasulfuron metabolite				
	CGA-161149	V(43-99%)	0.73	288	330
	triasulfuron metabolite				
	CGA-195654	V(15-132%)	0.73	288	330

- 1 . Hydrolysis chamber maintained at ambient temperature. Optimum detector excitation and emission wavelengths listed for each chemical.
 - 2 . Codes ; C : complete (>80%) recovery; O : partial (<80%) recovery, with approximate percent recovery given in parentheses, when known; dV : variable (approximate percent range).
 - 3 . complete recovery can be obtained by eluting charcoal-silanized Celite column, 242.223. with additional 100 mL petroleum ether.
 - 4 . Chromatography not reliable reproducible, so method recoveries not run.
- * وحتى لا أطيل على القارئ اضع بين يديه محتويات الباب الثاني من المؤلف الخاص بتحليل مخلفات المبيدات في الاغذية والعلائق - الجزء الاول .. حيث يتناول هذا الباب كل ما يتعلق بالاستخلاص والتنظيف .

Chapter 2

EXTRACTION AND CLEANUP

Table of Contents

201: Pesticides and Other Chemicals Tested Through PAM 1 dMultiresidue Methods	
Introduction	9/91
Table 201-A. Part I : Chemicals Tested Through PAM 1211.1	9/91
Table 201-A. Part II : Chemicals Tested Through PAM 1212.1	9/91
Table 201-B : Chemicals recovered through PAM 1211.15 b, c and d	9/91
Table 201-C: Chemicals Recovered Through PAM 1211.14 c	9/91
Table 201-D: Chemicals Tested Through PAM 1221.1	9/91
Table 201-E: Chemicals Recovered Through PAM 1232.2	9/91
Table 201-F: Chemicals Recovered Through PAM 11 251	9/91
Table 201-H: Chemicals Recovered Through PAM 1232.3	9/91
Table 201-I, Part I: Chemicals Tested Through PAM 1 232.4/242.1	9/91
Table 201-I, Part II: Chemicals Tested Through PAM 1 212.1	9/91
Table 201-K: Chemicals Recovered in 250 mL Petroleum Ether Fore-run	9/91
Index to Methods: chemicals Tested Through PAM I Methods	9/91
Index to Names : Alternate Names for Chemicals Through Methods	9/91
202: Proximate Percentage Water, Fat, and Sugar in Foods and Feeds	6/1/73
202.01 References	
202.02 purpose of table	
202.1 Foods	
202.11 Dairy products	
202.12 Fruits	
202.13 Eggs, chicken	
202.14 Fish and shellfish	
202.15 Nuts	
202.16 Oils, fats, salad dressings	
202.17 Vegetables	
202.2 animal feeds and grains	
202.21 General	
202.22 Dry roughages	
202.23 Green roughages, roots	
202.24 Silages	
202.25 Grains, concentrates, by-products, etc.	
1. Date indicates current version.	

210 : Oragnochlorine Residues (Nonionic)

211 : General Methods for Fatty Foods

211.1 : Extraction of fat - acetonitrile partition - Florisil column 1/82
cleanup-partition chromatography clean up-supplemental
cleanup

211.101 References

211.102 principles of AOAC method

211.103 Application

211.104 Chemicals recovered

211.11 Apparatus

211.12 Reagents

211.12a General reagents

211.12b Reagent mixtures

211.13 Extraction

211.13a Animal tissues

211.13b Butter

211.13c Cheese

211.13d Eggs and egg products

211.13e Feeds and feeding materials

211.13f Fish

211.13g Grains

211.13h Milk

211.13i Nuts

211.13j Oils

- 211.13k Oilseeds
- 211.14 Extraction of pesticides from isolate fat and oil - cleanup
of extracts containing fat and oil.
 - 211.14a Petr ether-acetonitrile partitioning
 - 211.14b Optional acetonitrile-petr ether backwash
 - 211.14c Partition chromatography
 - 211.14d Florisil column
- 211.15 Supplemental cleanup
 - 211.15a Second Florisil column
 - 211.15b Acid-Celite column
 - 211.15c MgO-Celite
 - 211.15d Alkaline hydrolysis
 - 211.15e References to procedures useful for supplemental cleanup
- 211.16 Determination
- 211.17 References to additional procedures
- 212: General methods for Nonfatty Foods
 - 212.1 : Acetonitrile extraction-water/acetonitrile extraction 3/1/77
-aqueous acetonitrile to petr ether transfer-Florisil column
cleanup
 - 212.101 References
 - 212.102 Principles of AOAC method
 - 212.103 Application

- 21.104 Pesticides and other chemicals recovered
- 212.11 Apparatus
- 212.12 Reagents
 - 212.12a General reagents
 - 212.12b Reagent mixtures
- 212.13 Acetonitrile extraction - water/acetonitrile extraction - aqueous acetonitrile to petr ether transfer.
 - 212.13a High moisture products (> 75% H₂O) with less than 5% sugar
 - 212.13b Dry products and products of intermediate moisture (< about 75% H₂O)
 - 212.13c Products containing 5-15% sugar.
 - 212.13d Products containing 15-30% sugar.
- 212.14 Florisil column cleanup
- 212.15 Supplemental cleanup
- 212.16 Determination
- 212.17 References to additional procedures
- 212.2 : Acetone extraction - isolation in organic phase - 5/1/78
 - optional Florisil column cleanup.
 - 212.201 Reference
 - 212.202 Principles
 - 212.203 Application
 - 212.204 Residues recovered
- 212.21 Apparatus
- 212.22 Reagents

212.22a General reagents	
212.22b Reagent mixtures	
212.23 Acetone extration - isolation in organic phase	
212.24 Florisil column cleanup	
212.25 Calculation of equivalen sample weight	
212.26 Determination	
212.26a By electron capture detector	
212.26b By flame ionization detector	
220 : Organochlorine Residues (ionic)	
221 : General Methods for chlorophenoxy Acids and Pentachlorophe- nol	
221.1 : Gel permeation chromatography (GPC) method	9/91
Principles	
Applicability	
Pesticides Recovered	
References	
Equipment	
Standard Reference Materials	
Apparatus	
Reagents	
preparatory Activities	
Preparation of GPC Column	
Calibration of GPC Column	
Florisil Check	

Method

Extraction

GPC Cleanup

Methylation

Florisil Cleanup

Determination

230 : organophosphorus Residues

230.1 A brief review of organophosphate chemistry 6/1/73

230.101 References

230.11 Nomenclature

230.12 Syntheses and reactions

Exhibit 230.1-A 1/1/68

Exhibit 230.1-B 1/1/68

Exhibit 230.1-C 6/1/73

231 : General Methods for Fatty Foods

231.1 : Extraction of fat - acetonitrile partition - Florisil 4/1/71

column cleanup

231.101 References

231.102 principles

231.103 Application

231.104 chemicals recovered

231.11 Apparatus

231.12 Reagents

231.13 Extraction of fat

- 231.14 extraction of pesticides from isolated fat and oil -
cleanup of extracts containing fat and oil.
- 231.15 Supplemental cleanup
- 231.16 Determination
- 232 : General Methods for Nonfatty Foods
- 232.1 : Acetonitrile extraction - water/acetonitrile extraction 4/1/71
- aqueous acetonitrile to petr ether transfer - florisil column
cleanup.
- 232.101 References
- 232.102 Principles of AOAC method
- 232.103 Application
- 232.104 pesticides and other chemicals recovered
- 232.11 Apparatus
- 232.12 Reagents
- 232.13 Acetonitrile extraction - water/acetonitrile extraction-
aqueous acetonitrile to petr ether transfer.
- 232.14 Florisil column cleanup
- 232.15 Supplemental cleanup
- 232.16 Determination

232.2 : Sweep co-distillation cleanup	7/1/69
232.201 References	
232.202 Principles	
232.203 Application	
232.204 Residues recovered	
232.21 Apparatus	
232.21a General apparatus and materials	
232.21b Sweep co-distillation apparatus	
232.22 Reagents	
232.23 Standard pesticide solution	
232.24 Extraction of crops	
232.25 Sweep co-distillation apparatus adjustment	
232.26 Sample injection into sweep co-distillation apparatus	
232.27 Determination	
232.28 Authors' Notes	
232.29 Additional references	
Exhibit 232.2-A Sweep co-distillation apparatus	
232.3 : Carbon column cleanup	3/1/75
232.301 References	
232.302 principles	
232.303 Application	
232.304 Residues recovered	
232.31 Apparatus	
232.32a General reagents	

232.32b	Reagent mixtures	
232.33	Acetonitrile extraction - water/acetonitrile extraction - aqueous acetonitrile to methylene chlorid transfer	
232.33a	High moisture products	
232.33b	products containing 5-15% sugar	
232.34	Charcoal column	
232.35	Determination	
232.4	Acetone extraction - isolation in organic phase	1/82
232.401	Reference	
232.402	principles	
232.403	Application	
232.404	Residues recovered	
232.41	Apparatus	
232.42	Reagents	
232.43	Acetone extraction-isolation in organic phase	
232.44	Calculation of equivalent sample weight	
232.45	Determination	
240	Organonitrogen Residues	
241	General Methods for Fatty Foods	(Reserved)
Extraction and Cleanup	Pesticide Analytical Manual Vol. 1	
Table of contents page VI	Foods and Feeds	

242 : General Methods for Nonfatty Foods

242.1 : Acetone extraction - isolation in organic phase 5/1/78

242.101 Reference

242.102 principles

242.103 Application

242.104 Residues recovered

242.11 Apparatus

242.12 Reagents

242.13 Acetone extraction-isolation in organic phase

242.14 Calculation of equivalent sample weight

242.15 Determination

242.2 : Method for N-methylcarbamates 6/90

Principles

Applicability

References

242.21 Equipment

242.211 Standard Reference materials

242.212 Apparatus

242.213 Reagents

242.214 Basic HPLC Operating parameters

242.215 System Suitability Test

242.22 Method

242.221 Extraction

242.222 Partition

242.223	Charcoal-silanized Celite cleanup	
242.224	Determination	
242.225	Confirmation	
Table 242.2-1 chemical Determined With Post-Column Derivatization		
Table 242.2-2 Chemicals Determined Without Post-Column Derivatization.		
242.3	Method for Bdenzimidazoles	9/91
Principles		
Applicability		
References		
242.31	Equipment	
242.311	Standard Reference Materials	
242.312	Apparatus	
242.312a	Apparatus for Extraction and Cleanup	
242.312b	Apparatus for HPLC	
242.313	Reagents	
242.313a	Reagents for Extraction and Cleanup	
242.313b	Reagents for HPLC	
242.314	Basic HPLC Operating Parameters	
242.315	System Suitability Test	
242.32	Method	
242.321	Extraction	
242.322	Extraction of Coffee Beans	
242.323	Determination	
242.324	Determination in Coffee Beans and Citrus	

242.4 Method for substituted Urca Herbicides 6/90

Principles

Applicability

References

242.41 Equipment

242.1411 Standard Reference Materials

242.412 Apparatus

242.413 Reagents

242.414 HPLC Operating Parameters

242.42 Method

242.421 Extraction

242.422 Partition

242.423 Florisil Cleanup

242.424 Determination

242.425 confirmation

Table 242.4-1 Pesticides Recovered Through Method

250 : Auxiliary Procedures and Techniques

250.1 Introduction 1/1/72

251 : Separation of Some Polychlorinated Biphenyls from
Certain Organochlorine Pesticides 1/82

251.1 : Silicic acid column chromatography for separation 3/1/77
of some polychlorinated biphenyls from certain
organochlorine pesticides.

251.101 References

251.102 Principles

- 251.103 Application
- 251.104 Chemicals recovered
- 251.11 Apparatus
- 251.12 Reagents
 - 251.12a General reagents.
 - 251.12b Preparation of reagents
- 251.13 Polychlorinated biphenyl references
- 251.14 Separation of PCB from organochlorine pesticides
- 251.15 Determination of polychlorinated biphenyls
- 251.2 : Derivatization and micro-column chromatography 3/1/77
 - for removal of DDT-compounds from extracts
 - containing PCB
- 251.201 Reference
- 251.202 principles
- 251.203 Application
- 251.204 Chemicals recovered
- 251.21 Apparatus
- 251.22 Reagents
 - 251.22a General reagents
 - 251.22b Reagent mixtures.

- 251.23 Polychlorinated biphenyl references
- 251.24 Separation of PCB from DDT and its analogs
 - 251.24a Dehydrochlorination
 - 251.24b Oxidation
 - 251.24c Florisil separation of PCB from dichlorobenzophenone
- 251.25 Determination of polychlorinated biphenyls
- 251.26 Other references
- 252 : Alternate Florisil Elution System 1/82
 - 252.101 Reference
 - 252.102 Principles
 - 252.103 Application
 - 252.104 Chemicals recovered
- 252.11 Apparatus
- 252.12 Reagents
 - 252.12a General reagents
 - 252.12b preparation of eluant mixtures
- 252.13 Florisil column
 - 252.131 Florisil column, optional single elution : eluant C only
- 253 : Exhaustive Extraction of Organochlorine Residues 9/1/72
 - 253.1 Introduction
 - 253.101 References
 - 253.102 principles
 - 253.103 Application

- 253.104 Chemicals recovered
- 253.11 Apparatus
- 253.12 Reagents
 - 253.12a General reagents
 - 253.12b Reagent mixtures
- 253.13 Preliminary extraction-Soxhlet extraction-transfer of residues to petr ether
 - 253.13a Fatty foods
 - 253.13b nonfatty foods : high moisture.
 - 253.13c Nonfatty foods : dry products and products of intermediate moisture (< about 75% H₂O)
- 253.14 Florisil column cleanup
- 253.15 use of exhaustive extraction
 - 253.15a analysis of samples with difficult-to-extract residues
 - 253.15b Obtaining results for comparison of extraction procedures (exhaustive extraction)

الفصل الثامن

التقدم فى طرق التنقية والاشتقاق لتحليل متبقيات مبيدات الآفات

* مقدمة .

- * التنقية المبسطة والكرماتوجرافى السائل لتقدير متبقيات الأوكساميل فى درنات البطاطا .
- * طريقة بسيطة وفعالة للتنقية والتحليل الكرماتوجرافى الغازى الشعري لمتبقيات الالديكارب ونوايج أكسده فى اوراق الكريزانثيم .
- * تقدير الأوكساميل بالكروماتوجرافى الغازى بعد اشتقاقه الى داي نيترو فينيل ميثيل امين .
- * اتجاه تحليلي جديد للنبات واستخلاص وتقدير متبقيات البينوميل والكاربندازيم فى اوراق اشجار التفاح بلون تنقية .
- * طريقة الكروماتوجرافى السائل عالى الكفاءة للتقدير التلقائي للبينوميل والكاربندازيم فى وسط مائى .

التقدم في طرق التنقية والاشتقاق لتحليل متبقيات مبيدات الآفات

Progress in clean-up and derivatization techniques for pesticide residue analysis

طريقة التنقية السريعة لتحليل متبقيات الأوكساميل في درنات البطاطا قد تطورت مع استخدام كبسولات SEP-PAK Florisil Cartridges . وطريقة التنقية الأخرى التي تطورت باستخدام الفصل الكروماتوجرافي الغازي (GC) لتقدير متبقيات الالديكارب (التيميك) ونوايج تأكسده السامة في أوراق الكريزانتيم مع استخدام عمود من ماصة معبأة بـ ٢، ٠ جم من Nuchar - Attaclay . وطريقة الفصل الكروماتوجرافي الغازي المستخدمة لتقدير متبقيات الأوكساميل بعد اشتقاقه إلى (داي نيتروفينيل ميثيل أمين) dinitro phenylmethylamine . وطريقة وحيدة بدون استخدام تنقية تستخدم للتحليل الفردي لمتبقيات البينوميل ومادة هلمه (carbendazin) في أوراق التفاح بالطور العادي للـ HPLC . وفي طريقة أخرى يشتق البينوميل في وسط مائي إلى STB بينما مرافق الكاربيندازيم (co- carbendazim) الموجود يظل بدون تغير وحينئذ يقدر كل منهما منفردا بالطور المنعكس للـ HPLC (للكروماتوجرافي السائل عالي الكفاءة) ومع ذلك تشتق وتحول متبقيات البينوميل والكاربندازيم في التفاح إلى AB ، 2 - على التوالي ، وتقدر بالطور المنعكس للـ HPLC . وفي عمود التنقية يتم تحليل الالديكارب واثنين من مركباته المؤكسدة في التربة بواسطة الكروماتوجرافي السائل عالي الفاعلية مع استخدام عمود الفصل الحجمي .

مقدمة Introduction :

تعتبر التنقية خطوة متطورة للتقدير الدقيق لمتبقيات مبيدات الآفات . حيث ان كثير من الطرق التقليدية تكون مكلفة ماديا ومضنية للوقت (تستغرق وقتا طويلا) . وهي على ذلك غير عملية . وبالتالي نأمل الحصول على طريقة للتنقية تكون مفيدة بوجه عام وبسيطة في نفس الوقت لأن خواص التحليل تختلف باختلافات غير معلومة وطبيعة الشوائب وإمكانية إزالتها معقدة جدا .. وطرق التنقية المألوفة الاستخدام تشمل :

- 1 - Liquid - Liquid partitioning
- 2 - Open column chromatography.
- 3 - thin layer chromatography
- 4 - distillation and low temperature precipitation

هناك عدة اتجاهات جديدة وناجحة مستخدمة في طرق البحث الحديثة تستخدم اعمدة صغيرة قد تكون أكثر شهرة ووضوحا .

تستخدم الاشتقاق (عملية الاشتقاق Derivatization) مرارا وتكرارا في تحليل المتبقيات وذلك لتغير خواص التحليل حيث ان منتجات الاشتقاق (المنتجات المشتقة) تكون أكثر ملائمة

لنظم التحليل المتخصصة خاصة طريقة الفصل الكروماتوجرافي الغازي (GC) وطريقة الفصل الكروماتوجرافي السائل العالي الكفاءة (HPLC) حيث ان اهم الخصائص فى هذه الطرق تكون متغيرة ، وحساسة ، واختيارية .. ولتحسين الحساسية والاختيارية فان تقدما اكثر وضوحا يتم عمله فى عمود الاشتقاق (Post - column derivatization) على انظمة الكروماتوجرافي السائل عالي الصلاحية (HPLC) . وان اعظم تقدم فى هذا الاتجاه هو تبسيط الاحتياجات ولوازم التنقية .

يوجد اتجاه واضح فى نطاق التنقية والاشتقاق لتسهيل وتبسيط اجراءات التنقية بالارتفاع بكل المواد (المادة ومشتقاتها) وفهم وادراك وسائل التنقية والاشتقاق بحكمة . وفى هذه المقالة عدة امثلة لطرق جديدة اكثر نجاحا واستخداما فى معاملنا المتخصصة لتحليل متبقيات مبيدات الآفات . هذه الامثلة تشمل طرق التنقية البسيطة وطرق الاشتقاق ، والاتجاهات الحديثة اللازمة لانمام عملية التنقية .. وقد بذل جهد وافر فى هذه الدراسات لتطوير الطرق المستخدمة لتقدير المركبات الاساسية (Parent compounds) يفضلها بوضوح عن مركبات هدمها الطبيعية .

التنقية البسيطة والكروماتوجرافي السائل لتقدير متبقيات الاوكساميل فى درنات البطاطا :

تستخلص عينة البطاطا بالميثانول ، ويجفف المستخلص بكميات الصوديوم ١٠ ٪ ثم توضع فى مقسم او مجزئ تلقائيا (داى كلوروميثان) ٤ . مل مجزئ (مقسم) من مستخلص الداى كلوروميثان بعد التركيز (٢ جم بطاطا) فتمرر خلال جهاز (SEP-PAK Florisil cartridge) . ويتم الازاحة ب ٤ مل ميثانول + داى كلوروميثان (نسبة ١ : ٩) . وبعد التطاير بالمزاج يعاد اعادة ذوبان المتبقى فى الماء (٢ جم بطاطا/ ١ مل ماء) . ويتم تقدير الكروماتوجرافي السائل (LC) باستخدام (Zorbax PSM 60) لتعبئة عمود الطرد الحجمى Size exclusion column مغ اسيتونيتريل + ماء (نسبة ١ : ٩) الطور المتحرك كاشف الاشعة الفوق بنفسجية فى ٢٥٤ ميكرومتر . والنتيجة انه ليس هناك مواد متداخلة وان اقل تركيز يمكن الكشف عنه للأوكساميل كان ٠,٠١ ميكروجرام اوكساميل / ١٧ جم بطاطا .

طريقة بسيطة وفعالة للتنقية والتحليل الكروماتوجرافي الغازى الشعري لمتبقيات الالديكارب ونواتج تأكسده فى اوراق الكريز انثيم :

استخلصت عينة الاوراق بالميثانول ونقيت المستخلصات باستخدام اعمدة تحتوى على ٠,٠٢ جم من مادة (Nuchar - attaclay) على قمة وسادة من الصوف الزجاجى فى ماصة (٢ مل) من مجزئ مستخلص الميثانول (٢٤,٠ جم اوراق) مررت خلال العمود . وتحليل المزاج مع اضافة ١ مل ميثانول . ثم بعد تطاير الميثانول يعاد ذوبان المتبقى فى خلات الايثيل acetate ethyl . والمخلول حيثئذ يكون جاهزا للتقدير الكروماتوجرافي الغازى الشعري مع حقن (splitless) وكشف متخصص لتعديل التيار . الالديكارب والالديكارب سلفوكسيد والالديكارب سلفون يعاد ذوبانها جميعا ثم يقدر كل مركب على حدة بحقن ١ ميكروليتر .

تقدير الاوكساميل بالكروماتوجرافى الغازى بعد اشتقاقه الى داي نيتروفيثيل

ميثيل امين :

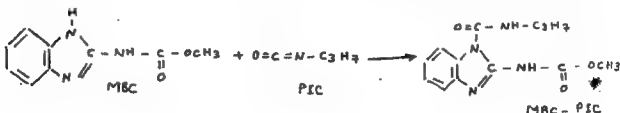
بعد التحليل المائى القلوى للاوكساميل يشتق الى داي نيتروفيثيل ميثيل امين (DNPMA) ويقدر بالكروماتوجرافى الغازى مع الكاشف الماسك (الأسر) للالكترين . ويتم التحليل المائى فى درجة حموضة ١٢ ، وحرارة ٨٠ م لمدة ١٠ دقائق مما يحرق مجموعة الميثيل امين والتي تتفاعل مع داي نيتروفلوروبنزين فى درجة حرارة ٨٠ م لمدة ١٠ دقائق ايضا وبالتالى تعطى (DNPMA) كمحصلة للتفاعل . والعمود المستخدم طوله يكون ١,٨ متر وقطره ٢,٥ م ويبدأ العمود الزجاجى بـ ٣ % من 60-XE على كروم غازى ٨٠/١٠٠ mesh .

بهذه الطريقة يمكن تقدير الاوكساميل بدون تدخل من اوكريمات المراقبة (المتناظرة) والتي من المعروف عنها انها مركبات هدم غير سامة للاوكساميل وموجودة بالضرورة فى كل العينات المعاملة بالاوكساميل .. والمتبقى الحقيقى للاوكساميل فى اوراق التبغ (الدخان) والارضى عند تحليلها كانت اقل مستوى من ١ جزء فى المليون .

اتجاه تحليلى جديد لثبات واستخلاص وتقدير متبقيات البينوميل والكريندازيم فى اوراق اشجار التفاح بدون تنقية :

توضع عينات الاوراق فى وعاء مجففة بالتبريد ثم تخلط او تقرب لعمل المستخلص فى كلوروفورم يحتوى على ٥٠٠٠ ميكروجرام من n - propyl isocyanate (PIC) ١/ مل فى درجة حرارة ١ م ، وتضاف ٥٠٠٠ ميكروجرام من ن - بيوتيل ايزوسيانييد (BIC) ١/ مل الى المستخلص ، ثم تخمن من هذا الخليط او المزيج ٢٠ ميكروليتر الى نظام الكروماتوجرافى السائل العالى الصلاحية . حيث تتحول متبقيات الكاريندازيم التى تذيب بصعوبة فى الكلوروفورم الى ١ - (ن - برويل كاربامول) - ٢ - بنزيميد ازلو كاربامات MBC - PIC خلال الاستخلاص .

MBC - PIC مع البينوميل تستخلص اسهل فى الكلوروفورم عند ١ م غير انه فى هذه الدرجة من الحرارة يكون هدم البينوميل غير واضحا ولذلك فان اضافة BIC تكون مهمة جداً بعد الاستخلاص للكروماتوجرافى السائل عالى الصلاحية (HPLC) وذلك لمنع تحليل وهدم البينوميل فى غرفة حرارية . واستخدم الوسط العادى للـ (HPLC) مع مزيج الوسط المتحرك (كلوروفورم + هكسان بنسبة ٤ : ١) المشبع بالماء مع كاشفة الاشعة فوق البنفسجية (UV detection) فى ٢٨٠ نانوميتر . وعدم التنقية هنا مهم نظرا لأن كمية صغيرة فقط من الشوائب هى التى استخلصت مع الكلوروفورم فى ١ م .

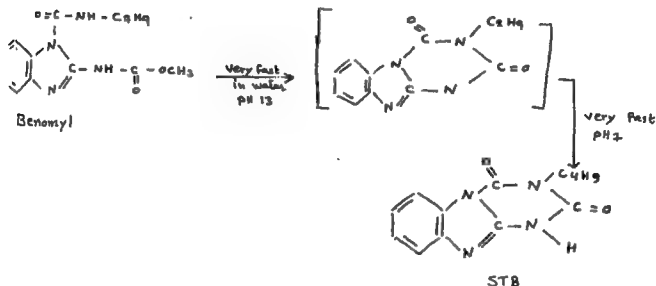


طريقة الكروماتوجرافى السائل عالى الكفاءة للتقدير التلقائى للبينوميل والكاريندازيم فى وسط مائى :

من الحال التقدير الدقيق المضبوط او التقدير الفردى لتركيزات البينوميل الصحيحة وكذلك تركيزات الكاريندازيم فى المحاليل . وذلك لأن البينوميل يتحلل الى كاريندازيم . بالإضافة الى ان التحليل الدقيق والفردى لكلا المركبين بالكروماتوجرافى السائل عالى الكفاءة (HPLC) غير عملى لأن الاختلاف بين المركبين فى القطبية واسما .

وفى هذه الطريقة يقدر البينوميل فى وسط مائى حيث يتحول خلال ٢٠ دقيقة الى ٣ - بيوتيل - ١ - ٢ ، ٤ داي اوكسو - س - تراى ازينو (١ و ٢ - ٩) بنزيميدازول .

مع هيدروكسيد الصوديوم عند حموضة ١٣ وتقدر كـ (STB) . وعلى النقيض من ذلك فان الكاريندازيم يكون موجودا فى كل العينات المعاملة بالبينوميل ويكون عدم التأثير بهذه المعاملة القلوية وتقدر ككاريندازيم .. وعموما فان كلا من الـ (STB) والكاريندازيم يقدران فرديا بالطور المنعكس لكـ (HPLC) . والـ (STB) المتكون حينئذ تكون ثابتة ويكون تحللها من الكاريندازيم اسهل وامثل مع مخاليط الطور المتحرك والمتكونة من اسيتونتريل ووسط مائى عند حموضة (7PH) وذلك للاختلافات النسبة بينهم . وتطبق هذه الطريقة لكل العينات المائية المشتعلة على مخاليط الرش والمياه فى البيشة . واقل تقدير امكن الحصول عليه هو ٠,٠٥ ميكروجرام/١ مل مع ٥٠ ميكروليتر من المحقون .



الفصل التاسع

- طرق تحليل مخلفات المبيدات :

Methods of analysis for pesticide residues

١ - مقدمة Introduction

* المجال والهدف Scope

* معايير إختيار طرق التحليل Criteria for the selection of analytical methods

* الاختبارات التأكيذية Confirmatory tests

* استخدام طرق التحليل Application of methods

٢ - قائمة طرق التحليل List of methods of analysis

٣ - قائمة المراجع References

* الدوريات manuals

* المراجع المنشورة Literature

- خطوات التحليل المناسبة Suitable procedures

* قائمة المراجع

طرق تحليل مخلفات المبيدات

Methods of analysis for pesticide residues

(أ) توصيات لجنة الدستور - المجموعة المسعولة عن طرق تحليل المخلفات :

١ - مقدمة Introduction :

١٠١ - المجال والهدف Scope :

فى هذا التقرير وضعت التوصيات الخاصة بطرق التحليل والتي يمكن استخدامها لتقدير مخلفات المبيدات للأغراض الرقابية تبعا لخبرات مجموعة العمل وكذا توصيات CCPR . ويتضمن الجدول التالى المبيدات التى ما زالت تحت المناقشة من قبل لجنة الدستور Codes MRL'S . هذه القائمة لا تعالج الموضوع معالجة كاملة والطرق الغير مذكورة فى الجداول يمكن ان تستخدم كذلك فى التحليل تحت بعض الظروف .

٢٠١ - معايير اختيار طرق التحليل

Criteria for the selection of analytical methods

كلما كان يمكن استعملت اللجان ومجموعة العمل المعايير التالية عند اختيار طرق التحليل :

أ - تكون منشورة فى مراجع متاحة ومعروفة Open literature .

ب - تم دراستها بالتعاون بين المعامل المختلفة أو معروف صلاحيتها فى عدد من المعامل مع التسليم بصلاحية البيانات المنشورة عن هذه الطرق .

ج - تكون الطريقة قادرة على الكشف عن أكثر من مركب واحد أى طريقة لتقدير متعدد المخلفات .

د - مناسبة للكشف عن المخلفات في أكثر من سلعة وعند حدود أقل من المستوى الأقصى للمخلفات MRL's .

هـ - تصلح للتطبيق في المعامل المستولة عن التحليل الروتيني للمخلفات والمجهزة بالاجهزة الروتينية للتحليل .

وبالإضافة الى ذلك تعطى الافضلية للطرق التي تعتمد على اجهزة الكروماتوجرافى الغازى - السائل Gas liquid chromatography . ومن الطبيعى ان تتضمن الطرق الاسيكتروفوتومترية والكروماتوجرافى ذى الألواح الرقيقة TLC وكذلك الكروماتوجرافى فائق المقدرة السائل HPLC كما ان الطرق الخاصة بقياس الكتلة MASS SPECTROMETRY تستخدم لأغراض التأكيد .

٣٠١ - الاختبارات التأكيديّة Confirmatory tests :

في العمود الاخير من الجداول مدونة طرق الكشف التأكيديّة . يعتبر تأكيد تواجد المخلفات التي تم الكشف عنها بالطرق الموصى بها أمراً ضرورياً في مجال طرق التحليل العملية الجيدة (GAP) خاصة اذا اوضحت النتائج الأولية وجود مستوى مخلفات اعلى من الحدود القصوى المسموح بها MRL's . ويعتمد اختيار طرق التحليل التأكيديّة على التكنيك المستخدم في التقدير الأولي ومدى توافر الاجهزة والخبرات اللازمة لاجراء هذه الاختبارات .

٤٠١ - استخدام طرق التحليل Application of methods :

بالرغم من ان طرق التحليل المدونة في الجداول قد اختيرت بعناية الا ان هناك دائماً للقيام بالتحليل التأكد من صلاحية الطريقة قبل ان يقرر استخدامها في الناحية العملية في برامج التحليل المسئول عنها . وهناك حاجة مستمرة لتقييم كفاءة هذه الطرق في الكشف عن المخلفات في حدود MRL's أو الحدود الأقل من ذلك . والطرق الموجودة في الجداول موصى بها فقط للكشف عن المخلفات على السلع الموجودة في اصل الطريقة كما يوضحها المرجع المنشورة فيه . ومن المفهوم ان هذه الطرق تصلح كذلك للكشف عن مخلفات المبيدات على سلع اخرى اذا اتبعت خطوات التحليل الجيدة .

٢ - قائمة طرق التحليل List of methods of analysis :

تتضمن الجداول في العمود الاول اسم المركب والرقم المعطى له من قبل لجنة دستور مخلفات المبيدات CCPR بين قوسين (--) وهذا يمكن الوصول اليه بالاتصال المباشر بهذه الهيئة . أما العمود الثاني يتضمن الطرق الموصى بها وإماكن نشرها وهي اما في الدوريات Manuals أو في قائمة المراجع (٣ -) . ويتضمن العمود الثالث بعض الطرق الاخرى للكشف

عن مخلفات المبيدات المعينة والمدرجة في الجداول ويمكن للقارئ الاهتداء اليها بنفس الطريقة في العمود الثاني من خلال الرجوع للدوريات والمراجع (٣) . والعمود الرابع يتناول طرق الاختبارات التأكيدية ويمكن الحصول عليها بنفس الاسلوب في العمودين الثاني والثالث . ومن الافضل ان تترك كما هي باللغة الانجليزية لأن ترجمتها للعربية مستحيل لأنه سيفقد جوهرها وقيمتها وسأشير فقط الى عناوين الاعمدة الاربعة باللغة الانجليزية وقد سبق ترجمتها للعربية في اعلاه .

* العمود الأول : Compound (CCPR - number in parentheses)

* العمود الثاني : Collaboratively checked or otherwise assessed methods

* العمود الثالث : Other analytical methods

* العمود الرابع : Confirmatory tests

2. LIST OF METHODS OF ANALYSIS

قائمة طرق التحليل

Compound (CCLPR-number in parentheses)	collaboratively checked or other- wise assessed methods	other analytical methods	confirmatory tests
acephate	2c, 2d	Leary Richmond	2 e
aldrin/dieldrin (1)	1a, 2a, 2d, 3a, 4 (S1-5, S8-10, S12) Greve (2) Holmes Mestres (1, 4) Panel (4) Telling	5 Poster Sissons Specht	2f, 3b , 4a Abbott (2) Mestres (5)
amitrole (79)	none	2e, 4 (4) Loke	none
azinphos-methyl (2)	2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8) Abbott (1) Panel (3) Mestres (1) Mestres (5)	2e, 4 (63) Bowman (1) Eichner Krause	2f Cochrane (3) ernst (1) Mendoza (1)

binapacryl (3)	2a, 3a	4 (8, 43) Baker (3) Specht	Baker (3)
bromophos (4)	2a, 2d, 4 (S5, S8-10, S13, S17) Abbott (1) Mestres (1) Working Group	4 (210) Krause Specht	Ernst (1) Mestres (5)
bromophos-ethyl (5)	2a, 2d, 3a, 4 (S13, S17) Abbott (1) Mestres (1)	4 (263) Specht	Ernst (1) Mestres (5)
bromopropylate(70)	2a	Stijve (1)	Stijve (1)
sec-butylamine(89)	none	2e Baker Day	none
captafol (6)	2d Mestres (1)	Baker (2) eichner	Pomerantz (1) Kilgore (2) Pomerantz (2) Specht Zweig (4)
captan (7)	1g, 2a, 2d, 3a, 4 (S8, S12) Mestres (1)	4 (12), 5 Baker (2) Kilgore (1) Pomerantz (2) Specht	3 b Pomerantz (1)
carbaryl (8)	1e, 1h, 2d, 3a Mestres (6)	4 (100) Cohen Lawrence (2)	2f Cochrane (3) Ernst (1)

			Mendoza(1, 2)
carbofuran (96)	1e, 3a	2e Lawrence (2) Moellhoff (2)	2e , 2f Cochrane (3) Mendoza (2)
carbophenothion (11)	1c , 2c, 2d, 3d 3a , 4 (S8, S10, S13, S16)	2e Bowman (1) Specht	2f Ernst (1) Mestres (5)
cartap (97)	none	official Gazette Zweig (1)	none
chinomethionate (80)	2d	4 (189) Tjan (1)	2e Francoeur Mestres (1)
chlordane (12)	2a , 2d , 3a , 4 (S9, S10, S12) Mestres (1)	5 Cochrane (2) Specht	2f , 3 b Chau (1) Mestres (5)
chlordimeform (13)	none	2e Zweig (1)	zweig (1)
chlorfenviphos (14)	2d, 3a , 4 (S13, S17) Abbott (1) Mestres (1)	2e, 4 (239) Krause Specht	2f Ernst (1) Mestres (5)
chlormequat (15)	none	Mooney Nierle Sachse Stijve (2) Zweig (1)	Tafduri (1, 2)
chlorobenzilate (16)	2a , 3a Mestres (1)	Fromica	Mestres (5)

chlorothalonil (81)	2a, 2d , 3a	Zweig (2)	none
chlorpyrifos (17)	2a, 2c , 2d, 3a, 4 (S9, S13) Mestres (1,6)	5 Bowman (1) Braun (1) Specht	2f Ernst (1) Mestres (5)
chlorpyrifos- methyl (90)	2c , 2d Mestres (6)	Desmarchelier	none
crufomate (19)	none	2e Bowman (1)	2f Greenhalgh (1,2)
cyanofenphos (91)	none	Takimoto (2)	none
cyhexatin (67)	none	2e Gauer Moellhoff (3) Love Zweig (1)	2e
2, 4-D (20)	2b, 3a	4 (27) , 5 Allebone Bjerke Clark Dupuy Meagher	2f Cochrane (3) Mestres (5) Suffet
DDT (21)	1a, 2a, 2d, 3a, 4 (S1-5, S8-10), S12) Greve (2) Holmes Mestres (1, 4) Panel (4) Telling	4 (30), 5 Porter Sissons Specht	2f , 3b Abbott (2) . Chau (1) Mestres (5)
demeton (92)	2c ,2d,4 (S5,S16) abbott (1)	none	2f Ernst (1)
demeton-s-methyl (73)	2c,2d, 4 (S5,S13, S16)	Krause Thornton (2)	2f Ernst (1)

	Abbott (1)	Vandermerwe Wagner (2)	
dialifos (98)	2a, 2d	4 (281) Westlake	Ernst (1)
diazinon (22)	1a, 2a, 2c, 2d 3a, 4 (S5, S8, S10, S13, 517) Abbott (1) Mestres (1) Working Group	4 (35) Bowman (1) Krause Machin Specht	2f Ernst (1) Mendoza (1, 2) Mestres (5) Singh
dischlofluanid (82)	4 (S8, S12)	4 (203) Specht	Mestres (5)
dicloran (83)	2a, 2d, 3a	DeVos	none
dichlorvos(25)	2c, 2d, 3a, 4 (S5, S13, S17) Abbott (1) Panel (1, 3) Mestres (1,6)	4 (200) Dale Draeger (1) Elgar Krause	2f Cochrane (3) Ernst (1) Mendoza (2) Mestres (5)
dicofol (26)	2a, 2d, 3a, 4 (S9, S12) Mestres (1) Telling	4 (69) Morgan Specht	2f
dimethaote (27)	2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S13, S17) Abbott (1) Mestres (1) Panel (3) Working Group	4 (42, 236), 5 Krause Specht Steller Wagner (1)	2f Greenhalgh (2) Mestres (5)
dioxathion (28)	2c, 2d, 4 (S8, S13)	none	Ernst (1)

	Abbott (1)		
diphenyl (29)	1f, 2d Mestres (3)	4 (256) Farrow Pyysalo	Beernaert
diphenylamine (30)	none	2e Allen Gutenmann Luke	none
diquat (31)	none	2e, 4 (37) Calderbank (2) Zweig (4)	King
disulfoton (74)	2a, 2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S13, S16, S17) Abbott (1) working Group	2e Bowman (2) Specht Thornton (1)	2e, ef Mendoza (1) Mestres (5)
dithiocarbamates (105)	3a, 4 (S15) Keppel Mestres (7)	2e McLeod Ripley (1) Rosenberg	none
dodine (84)	1i, 2e	Newsome	none
edifenphos (99)	none	Vogeler	none
Endosulfan (32)	1b, 2a, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S12) Mestres (1) Teeling	4 (50), 5 Porter Sissons Specht	2f, 3b Abbott (2) Chau (2) Cochrane (3) Greve (1) Mestres (5) Musial Putnam

endrin (33)	1a, 2a, 2d, 3a, 4 (S5, S9-10, S12) Holmes Mestres (1, 4) Panel (4) Telling	5 Sissons Specht	2f, 3b Abbott (2) Chau (3, 4) Mestres (5) Musial
ethiofencarb (107)	none	4 (393) Draeger (2)	none
ethion (34)	1a, 2a, 2c, 2d 3a, 4 Abbott (1) Mestres (1)	Bowman (1) Ivey Specht	2f Ernst (1) Mendoza (1,2) Mestres (5)
ethoxyquin (35)	none	2c, 4 (500) Ernst (2) Winell	Weilenmann
fenamiphos (85)	2d, 4 (S15)	Thornton (3)	none
fenbutatin oxide (109)	none	Zweig (4)	none
fenchlorphos	1a, 2a, 2c, 2d, 3a, 4 (S8-10, S13, S17) Abbott (1) mestres (1)	specht	2f Ernst (1) Meseres (5) Singh
fenitrothion	2a, 2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S13d, S17) Abott (1) Mestres (1) Working Group	4 (58) Desmarchelier Krause Specht Takimoto (1)	2f Ernst (1) Mestres (5) Singh
fensulfothion (38)	2c, 2d, 3a, 4 (S13, S16, S17)	bowman (3) Williams Zweig (1)	none

Fenthion (39)	2a, 2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S13, S16, S17) Abbott (1) Mestres (1)	2e Bowman (2) Krause Wright	2f Ernst (1)
fentin (4)	none	2e, 4 (55)	2e
ferbam (105)	see dithiocarbamates		
folpet (41)	2a, 2d, 3a, 4 (S8, S12) Mestres (1)	4 (91) Baker (2) Pomerantz (2)	Pomerantz (1)
formothion (42)	2c, 2d, 4 S5, S8) Abbott (1) Mestres (1)	4 (236) Specht Zweig (2)	Ernst (1) Mestres (5)
guazatine (114)	none	kobayashi	none
heptachlor (43)	1a, 2a, 2b, 2d, 3a, 4 (S1-4, S8-10, S12) Greve (2) Holmes Mestres (1, 4) Telling	5 eichner Porter Sissons Specht	2f, 3b Abbott (2) Chau (1, 4) cochrane (3) Mestres (5) Musial Ward
hydrogen cyanide (45)	none	2e, 4 (11) Heuser (1) Jaulmes	none
hydrogen phosphide (46)	none	2e, 4 (13) burce Greve (4)	robison
imazalil (110)	none	Greenberg Norman Specht Wijnants	none

inorganic bromide (47)	Greve (3) Panel (12)	2e Heuser (2)	none
lprodione (111)	Mestres (1)	4 (419) Zweig (5)	none
liadane (48)	1a, 2a, 2d, 3a , 4 (S1-5, S8-10, S12) Greve (2) Holmes mestres (1, 4, 6) Panel (5) Telling	4 (70), 5 DeVos Porter Sissons Specht	Abbott (2) Cochrane (1) Mestres (5)
malathion (49)	1a, 2a, 2c , 2d , 3a, 4 (S5,S8,S10,S13,S17) Abbott (1) Mestres (1, 6) Panel (1, 3) Working Group	4 (72) 2f Bowman (1) Desmarchelier krause Specht	Cochrane(1) Ernst (1) Mendoza (1, 2) Mestres (5) singh
mancozeb (5)	see dithiocarbamates		
maneb (105)	see dithiocarbamates		
methamidophos (100)	2c , 2d, 3a	4 (365) , 5 Leary Lubkowitz Moellhoff (1) Specht	none
methidathion (51)	2a, 2c, 2d, 3a, 4 (S5, S13)	2e, 4 (232) Krause Leary Specht Zweig (2)	Ernst (1) Mestres (5)

mevinphos (53)	2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S13, S17) Abbott (1) Mestres (1) Mestres (5)	4 (93) krause Specht	2 f Cochrane (3) Ernst (1) Mendoza (1)
monocrotophos	2c, 2d	2e Lawrence(1)	2f Ernst (1) Lawrence (1) Mestres (5)
Omethoate (55)	2c , 2 d , 4 (S13, S17) Abbott (1) panel (3)	4 (236), 5 Specht Steller Wagner (1)	Ernst (1) Mestres (1)
ortho-phenyl- phenol (56)	2d Mestres (3)	4 (256) Farrow Pyysalo	Beernaert Cochrane(3) Nose
paraquat (57)	none	2e, 4 (134) Calderbank (1) Khan Lott Zweig (4)	Cochrane (3)
parathion (58)	1a, 1c, 2a, 2c, 2d, 3sa, 4 (S5,S8, S10,S13,S17) Abbot (1) Mestres (1) Panel (3)	4 (87) bowman (1) Krause Specht	2f Cochrane (3) Ernst (1) Mendoza (1, 2) Mestres (5) Singh
parathion- methyl (59)	1a, 2a, 2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S13, S17) Abbott (1) Mestres (1)	4 (88) bowman (1) Krause Specht	2f Cochrane (3) Mendoza (1, 2) Mestres (5) Singh

phosalone (60)	2a, 2c , 2d, 3a Abbott (1) Mestres (1)	5 Eichner Specht Zweig (1)	Ernst (1) Mestres (5)
phosmet (103)	2c, 2d Mestres (1)	bowman (1,4)	none
phosphamidon	2c, 2d, 3a, 4 (S5, S13) Abbott (1) Mestres (1)	Voss	Mestres (5)
piperonyl butoxide (62)	none	11, 2e, 4 (163) Isshiki Munday Specht	none
pirmicarb (101)	none	5 Zweig (1)	Mestres (8)
pirimiphos- methyl (86)	Mestres (1, 6) working Group	Brealey Desmarchelier Zweig (2)	Mestres (6)
propargite (113)	2d , 3a	2e Devinel (1,2) Zweig (1)	none
propineb (105)	see dithiocarbamates		
propoxur (75)	1e	4 (216) Cohen lawrence (2) Specht Stanley Zweig (1)	Cochrane (3) Ernst (1) Mendoza (2)

pyrethrins (63)	mestres (6)	2e	none Specht
quintozene (64)	2a, 2d, 3a, 4 (S8, S9, S12) Mestres (1)	4 (99) Baker (1) DeVos Goursaud Specht	2f Baker (1) Mestres (5)
tecnazene (115)	2a, 4 (S8, S12)	4 (108) DeVos Specht	none
thiabendazole (65)	2d Mestres (2b)	4 (256) aharonson Farrow Gorbach Maeda Rajzman Tjan (2)	Tanaka Wegman
thioneton (76)	2c, 2d, 4 (S13) Abbott (1)	Zweig (2)	Ernst (1)
Thiophanate- methyl (77)	Mestres (2a)	2e, 5 Engst Gnaegi Gorbach Shiga	Wegman
thirman (105)	see dithiocarbamates		
trichlorfon (66)	2d, 3a, 4 (S5, S13) Abbott (1) Mestres (1) Mestres (5)	2e, 4 (112), 5	2f Cochrane (3) Ernst (1)
triforine (116)	none	4 (338) Zweig (4)	none
zineb (105)	see dithiocarbamates		
ziram (105)	see dithiocarbamates		

REFERENCES : قائمة المراجع : ٣ -

3.1 Manuals

١٠٣ - الدوريات :

- (1) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 13th edition (1980); of also McMahon, B. and Burke, J.A., JAOAC, 61, 640-652 (1978).
 - (a) 29.001-20.0181 - Multiresidue methods for chlorinated and certain organophosphorus pesticides.
 - (b) 29.029-29.034 - Alternate elution system for endosulfan.
 - (c) 29.029-29.043 - Organophosphorus pesticides, "Storherr" multiresidue method.
 - (d) 29.056-29.057 - Fumigants, multiresidue method.
 - (e) 29.058-29.063 - Carbamates, "Holden" multiresidue method.
 - (f) 29.067-29.074.
 - (g) 29.076-29.080
 - (h) 29.082-29.090
 - (i) 29.108-29.111
 - (j) 29.112-29.118
 - (k) 29.123-29.126
 - (l) 29.161-29.164
- (2) Pesticide Analytical manual, as revised June 1979, Food and Drug Administration, Washington, D.C.
 - (a) Volume I, Tables 201-A, ;201-C, and sections 211, 212, 231, 232.1 and 252 Multiresidue methods for chlorinated and organophosphorus pesticides in fatty and non-fatty foods.
 - (b) Volume 1, Table 201-ID and sections 221 - Chlorophenoxy acids in fatty and non-fatty foods.
 - (c) Volume 1, Table 201-H and section 232.3 - Stokherr organophosphate/carbon clean-up for non - fatty foods
 - (d) Volume 1, Table 201-1 and section 232.4 - Luke et al., for various pesticides in non-fatty foods.

- (e) Volume II, Method under compound name (when in this reference several methods have been given, they are generally listed in order of preference).
- (f) volume I, Table 651-A and section 650 and 651 - Confirmatory tests.
- (3) Canadian manual on Analytical methods for Pesticide Residues in Foods. Information Canada, Ottawa, Canada, Cat. No. H 44-2869-REV (1973).
 - (a) analytical methods (section 5-8)
 - (b) confirmatory methods (section 11)
- (4) Methodensammlung zur Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, 5. Lieferung (1979), Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstrasse, Federal Republic of Germany (the numbers in parentheses refer to the numbers of the methods in this manual).
- (5) Laboratory Manual for Pesticide Residue Analysis in Agricultural Products, compiled by the R.B. Maybury, Pesticide laboratory, Food Production and Inspection Branch, Agriculture Canada, Ottawa, Ontario KIA OC5, Canada (1980).

3.2 Literature

٢٠٣ - المراجع المنشورة :

- Abbott (1), D.C. et al., Pestic sci 1, 10-13 (1970).
- Abbott (2), D.C. et al., J. Chromatog., 16, 481-487 (1964).
- Aharonson, N. and Ben-Aziz, A., JAOAC, 56, 1330-1334 (1973).
- Allebone, J. E. and Hamilton, R.J., J. Chromatog., 108-188 - 193 (1975)
- Baker, H.J., JAOAC, 61, 1001-003 (1978).
- Baker (1), P.B. and Flaherty, B., Analyst, 97, 378-382 (1972).
- Baker (2), P.B. and Flaherty, B., Analyst, 97, 713-718 (1972).
- Baker (3), P.B. and Hoodless, R.A., Analyst, 98, 172-175 (1973).
- Beernaert, H. J., Chromatog., 77, 331-338 (1973).
- Bjerke, E.L et al., J. Agr. Fd. Chem., 20, 963-967 (1972).
- Bong, R.L., JAOAC, 58, 557-561 (1975).
- Bowman (1), M.C. and Beroza, M., JAOAC, 50, 1228-1236 (1967).

- Bowman (2), M.C. and Beroza, M., JAOAC, 52, 1231-1237 (1969).
- Bowman (3), M.C. and Hill, K.R., J. Agr. Fd. Chem., 19, 342-345 (1971)
- Bowman (4), M.C. and Beroza, M., JAOAC, 49, 1154-11 (1966).
- Braun, H.E., JAOAC, 57, 182-188 (1974).
- Brealey, C.J. et al., J. Chromatog., 168, 461-469 (1979).
- Bruce, R.B. et al., J. Agr. Rd. Chem., 10, 18-25 (1962).
- Calderbank (1), A. and Yuen, S. H., Analyst, 90, 99-106 d(1965).
- Calderbank (2), A. and Yuen, S. H., Analyst, 91, 625-629 (1966).
- Chau (1), A.S.Y. and Lanouette, M., JAOAC, 55, 1058-1066 (1972).
- Chau (2), A.S.Y., JAOAC, 55, 1232-1238 (1972).
- Chau (3), A.S.Y. Bull. Envir. Cont. tox., 8, 169-176 (1972).
- Chau (4), A.S.Y., JAOAC, 57, 585-591 (1974).
- Clark, D.E. et al., J. Agr. Fd. Chem., 23, 573-578 (1975).
- Cochrane (1), W.P. and Maybury, R.B., JAOAC, 56, 1324-1329 (1973).
- Cochrane (2), W.P. et al., JAOAC, 58, 1051-1061 (1975).
- Cochrane (3), W.P. J. Chromat. Sci., 17, 124-137 (1979).
- Cohen, I.C. et al., J. Chromatog., 49, 215-221 (1970).
- Dale, W.E. et al., J. Agr. Fd. Chem., 21, 858-860 (1973).
- Day, E. V. et al., JAOAC, 51, 39-44 (1968).
- Desmarchelier, J. et al., Pestic. Sci., 8, 473-483 (1977).
- Devine (1), J.M. and Sisken, H.R., J. Agr. Fd. Chem., 20, 59-61 (1972).
- Davine (2), J. M., J. Agr. Fd. Chem., 23, 598-599 (1975).
- DeVos, R. H. et al., J. Chromatog., 93, 91-98 (1974).
- Draeger (1), G. Pflanzensch. Machr. Bayer, 21, 377-384 (1968).
- Draeger (2), G. Pflanzensch. Machr. Bayer, 27, 144-155 (1974).
- Dupuy, A.E. et al., J. Agr. Fd. Chem., 23, 827-828 (1975).

- Eichner, M., Z. Lebensm. Unters. Forsch., 167, 245-249 (1978).
- Elgar, K.E. et al., Analyst, 95, 875-878 (1970).
- Ernst (1), G.F. et al., J. Chromatog., 133, 245-251 (1977).
- Ernst (2), G.F. and Verveld-Roeder, S.Y., J. Chromatog., 269-271 (1979).
- Farrow, J.E. et al., Analyst, 102, 752-758 (1977).
- Formica, C., Meded. Fac. Landb. Gent., 40, 1135-1148 (1975).
- Francoeur, Y. Mallet, V., JAOAC, 59, 172-173 (1976).
- Francoeur, Y. and Mallet, V., JAOAC, 59, 172-173 (1976).
- Gauer, W.O. et al., J. Agr. Ed. Chem., 22, 252-254 (1974).
- Gnaegi, F. et al., Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 34, 91-100 (1974).
- Gorbach, S., Pure Appl. Chem., 52, 2569-2590 (1980).
- Goursaud, J. et al., Ann. Fals. Expert. Chem., 69, 327-336 (1976).
- Greenberg, R. and Resnick, C., Pest. Sci., 8, 59-64 (1977).
- Greenhalgh (1), R. et al., Bull. Envir. Cont. Tox., 7, 237-242 (1972).
- Greenhalgh (2), R. and Kovacicova, J., J. Agr. Fd. Chem., 23, 325-329 (1975).
- Greve (1), P.A. and Wit, S.L., J. Agr. Fd. Chem., 19 372-374 (1971).
- Greve (2), P.A. and Grevenstuk, W.B.F., Meded, Fac. landb. Gent. 40, 1115-1123 (1975).
- Greve (3), P.A. and Grevenstuk, W.B.F., Meded, Fac. landb. Gent. 41, 1371-1381 (1979).
- Greve (4), P.A. and Hogendoorn, E.A., Meded, Fac. landb. Gent. 44, 877-884 (1979).
- Gutenmann, W.H. and Lisk, D. J., J. Agr. Fd. Chem., 11, 468-470 (1963).
- Heuser (1), S. G. and Scudamore, K.A., J. Scr. Fd. Agric., 20, 566-572 (1969).
- Heuser (2), S. G. and Scudamore, K.A., Pestic. Sci., 1, 244-249 (1970).
- Holmes, D.C. and Wood, N.F., J. Chromatog., 67, 173-174 (1972).

- Isshiki, K. et al., Bull. Envir. Cont. Tox., 19, 518-523 (1978).
- Ivey, M.C. and Mann, H.O., J. Agr. Fd. Chem., 23, 319-321 (1975).
- Jaulmes, P. and Mestres, R., Ann. Tecnol. Agric., 11, 249-269 (1962).
- Keppel, G.E., JAOAC, 54, 528-532 (1971).
- Khan, S. U., Bull. Envir. cont. Tox., 14, 745-749 (1975).
- Kilgore (1), W.W. et al., J. Agr. Fd. Chem., 15, 1035-1037 (1967).
- Kilgore (2), W.W. and White, E.R., J. Agr. Rd. Chem., 15, 118-1120 (1967).
- King, R.R., J. Agr. Fd. Chem., 26, 1460-1463 (1978).
- Kobayashi, H. et al., J. Pest. Sci., 2, 427-430 (1977) .
- Krause, C. and Kirchhof. S., Deutsch lebensm. Rundsch., 66, 194-199 (1970).
- Lawrence (1), J.F. and Mcleod, H.A., JAOAC, 59, 637-640 (1976).
- Lawrence (2), J.F. J. Agr. Fd. Chem., 25, 211-212 (1977).
- Leary, J., JAOAC, 57, 189-191 (1974).
- Lokke, H., J. Chromatog., 200, 234-237 (1980).
- Lott, P.E. and Lott, J.W., J. chromat. Sci., 16, 390-395 (1978).
- Love, J. L. and Patterson, J.E., JAOAC, 61, 627-628 (1978).
- Lubkowitz, J.A. et al., J. Agr. Fd. Chem., 21, 143-144 (1973).
- Luke, B.C. and Cossens, S.A., Bull. Envir. Cont. Tox., 24, 746-751 (1980).
- Machin, A.F. and Quick, M.P., Analyst, 94, 221-225 (1969).
- Maeda, M. and Tsuji, A., J. Chromatog., 120, 449-455 (1976) .
- Malone, B., JAOACIII, 52, 800-805 (1969).
- McLeod, H.A. and McCully, K.A., JAOAC, 52, 1226-1230 (1069).
- Meagher, W.R., J. Agr. Fd. Chem., 14, 374-377 (1966).
- Mendoza (1), C.E. et al., analyst, 93, 34-38 (1968).
- Mendoza (2), C. E. and Shields, J.B., JAOAC, 54, 507-512 (1971).

Mestres (1), R. et al., Proc. Int. Soc. Citriculture, 2, 426-429 (1977) and Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 39, 323-329 (1979).

Mestres (2a), R. et al., Proc. Int. Soc. Citriculture, 3, 1103-1106 (1977) and Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 38, 81-86 (1978).

Mestres (2b), R. et al., Ann. Fals. Exp. Chim., 67, 585-598 (1974) and 69, 369-370 (1976).

Mestres (3), R. et al., Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 35, 87-100 (1975).

Mestres (4), R. et al., Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 36, 43-58 (1976).

Mestres (5), R. et al., Ann. Fals. Exp. Chim. 70, 177-188 (1977).

Mestres (6), R. et al., Ann. Fals. Exp. Chim. 72, 577-589 (1979).

Mestres (7), R. et al., Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 33, 191-194 (1973).

Mestres (8), R. et al., Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 31, 97-103 (1971).

Moellhoff (1), E. Pflanzensch, Nachr. Bayer, 24, 252-262 (1971).

Moellhoff (2), E. Pflanzensch, Nachr. Bayer, 28, 370-381 (1975).

Moellhoff (3), E. Pflanzensch, Nachr. Bayer, 30, 249-263 (1977).

Mooney, R.P. and Pasarela, N.R., J. Agr. Ed. Chem., 15, 989-995 (1967).

Morgan, N.L., bull. Envir. Cont. Tox., 3, 254-258 (1968).

Munday, W.H., JAOAC, 46, 244-245 (1963).

Musial, C. J. et al., Bull. Envir. Cont. Tox., 16, 98-100 (1976).

Newsome, W.H., J. Agr. Ed. Chem., 24, 997-999 (1976).

Nierle, W., Getteide, Mehl u Brot, 27, 48-51 (1973).

Norman, S. L. and Fouse, D. C., JAOAC, 61, 1469-1474 (1978).

Nose, N. et al., J. Chromatog., 125, 439-443 (1976).

Official Gazette, No. 4, Notification issued on March 20, 1979 by the Japan Environment Agency.

Panel (1) on Dichlorvos and Malathion in Grain, Analyst, 98, 19-24 (1973).

Panel (2) on Fumigant Residues of Inorganic Bromide in Grain, Analyst, 101, 386-390 (1976).

- Panel (3) on Organophosphorus Residues in Fruits and Vegetables, *Analyst*, 102, 858-868 (1977).
- Panel (4) on Determination of Organochlorine Pesticides in food stuffs on Animal Origin, *Analyst*, 104, 425-433 (1979).
- Pomerantz (1), I.H. and Ross, R., *JAOAC*, 51, 1058-1062 (1968).
- Pomerantz (2), I.H. et al., *JAOAC*, 53, 154-157 (1970).
- Porter, M.L. and Burke, J. A., *JAOAC*, 56, 733-738 (1973).
- Putnam, T.B. et al., *Bull. Envir. Cont. Tox.*, 13, 662-665 (1975).
- Pyysalo, H., *J. Chromatog.*, 168, 512-516 (1978).
- Rajzman, A., *Analyst*, 99, 120.127 (1974).
- Robinson, W. H. and Hilton, W.H., *J. Agr. Fd. Chem.*, 19, 875-878 (1971).
- Rosenberg, C. and Siltanen, H., *Bull. Envir. Cont. Tox.*, 22, 475-478 (1979).
- Sachse, J., *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 163, 274-277 (1977).
- Shiga, N. et al., *J. Pest. Sci.*, 2, 27-32 (1977).
- Singh, J. and Lapointe, M.R., *JAOAC*, 57, 1285-1287 (1974).
- Sissons, D. J. et al., *J. Chromatog.*, 33, 435-449 (1968).
- Specht, W. and Tillkes, M., *Presenius Z. Anal. Chem.*, 301, 300-307 (1950).
- Stanley, C.W. et al., *J. Agr. Fd. Chem.*, 20, 1265-1269 and 1269-1273 (1972).
- Stein, V.B. and Pittman, K.A., *JAOAC*, 59, 1994-10.. (1976)
- Steller, W.A. and Pasarela, N.R., *JAOAC*, 55, 1280-1287 (1972).
- Stijve (1), T. *Deutsche Lebensm. Rundsch.*, 76, 119-122 (1980).
- Stijve (2), T. *Deutsche Lebensm. Rundsch.*, 76, 234-237 (1980).
- Suffet, I.H., *J. Agr. Fd. Che.*, 21, 591-598 (1973).
- Tafari (1), F. et al., *Analyst*, 95, 675-679 (1970).
- Tafari (2), F. et al., *J. Agr. Fd. chem.*, 18, 869-871 (1970).
- Takimoto (1), Y. and Miyamoto, J., *Residue Rev.*, 60, 84-95 (1976).

- Takimoto (2), Y. and Mikyamoto, J., Report CC-50-0001, JMPR 1975.
- Tanaka, A. and Fujimoto, Y., J. chromatog., 117, 149-160 (1976).
- Telling, G. M. et al., J. Chromatog., 137, 405-423 (1977).
- Tjan (1), G. H. and Konter, Th., JAOAC, 54, 1122-1123 (1971).
- Tjan (2), G. H. and Jansen, J. Th. A., JAOAC, 62, 769-773 (1979).
- Thornton (1), J.S. and Anderson, C.A., J. Agr. Fd. Chem., 16, 895-898 (1968).
- Thornton (2), J. et al., J. Agr. Fd. Chem. 25, 573-576 (1977).
- Thornton (3), J. S., J. Agr. Fd. Chem., 19, 890-893 (1971).
- Vogeler, K., Pflanzensch. nachr. Bayerd, 21, 317-321 (1968).
- Voss, G. et al., Residue Rev., 37, 120-132 (1971)
- Wagner (1), K. and Frehse, H., Pflanzensch. Nachr. Bayer, 29, 54-66 (1976).
- Wagner (2), K. and thorton, J.S., Pflanzensch. Nachr. Bayer, 30, 1-17 (1977).
- Ward, kP.M., JAOAC, 60, 673-678 (1977).
- Wegman, R.C.C. et al., meded. Fac. Landb. gent., 40, 1077-1084 (1975).
- Weilenmann, H.R. et al., Lebansm. Wiss. u. Technol., 5, 106-107 (1972).
- Westlake, W.E., et al., J. Agr. Fd. Chem., 19, 1191-1195 (1971).
- Wijnants, J., Meded. Fac. Landb. Gent., 44, 913-926 (1976).
- Williams, I.H. et al., J. Agr. Fd. Chem., 19, 456-458 (1971).
- Winell, B., Analyst, 101, 883-886 (1976).
- Working Group of the Committee for Analytical Methods, Analyst, 105, 515-517 (1980).
- Wright, F. C. and Riner, J.C., J. Agr. Fd. Chem., 26, 1258-1259 (1978).
- Zweig (1), G. (edit.), Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth and Food Additives, Academic Press, New York - San Francisco - London, Vol. VII (1974).
- Zweig (2), G., idem., Vol VIII (1976).

Zweig (3), G., idem., Vol IX (1977).

Zweig (4), G., idem., Vol X (1978).

Zweig (5), G., idem., Vol XI (1980).

(ب) طرق مبسطة لتحليل مخلفات المبيدات Simplified approaches to residue analysis

بالرغم من ان طرق التحليل الحساسة مطلوبة للبحوث والدراسات الخاصة بتمثيل المبيدات الا ان التخصص ليس ضروريا في هذه الطرق . وحتى الطرق التي تستعمل لتقدير المخلفات في العينات الواردة من تجارب المخلفات ليست مطلوب منها ان تتلاءم مع التناحلات التي تحدث من مبيدات اخرى يمكن ان تركز طرق التحليل على الحساسية والتكلفة والسرعة . ومن جهة اخرى فان السرعة في التحليل وانخفاض التكاليف مطلوبة جدا لأى طريقة تستعمل للكشف عن المخلفات في المحاصيل المختلفة للتأكد من عدم زيادتها عن الحدود القصوى المحددة رسميا .

وحيث انه ليس معروفا عن المخاطر الصحية عند او حول المستويات القصوى للمخلفات التي حددها الدستور فان الحساسية الغير ضرورية او / والدقة يمكن ان تكون مكلفة ويحتمل ان تسفر عن نتائج غير مؤكدة اجابتها نعم أم لا في العديد من الحالات . ان الاجهزة المتقدمة والمتطورة جدا تتطلب تيار كهربي ثابت وتوفر مذيبات نقية وكذلك اسطوانات للغازات المطلوبة وخدمات صيانة وتوفر قطع الغيار وهذا يعتبر تكلفة عالية ويعتبر نوعا من الرفاهية في العمل الروتيني للكشف عن المخلفات .

والآن ... اصبح متوفرا للعديد من الطرق التي تستخدم تكنولوجيا مناسبة تفى بفرض الكشف عن المخلفات ولقد قامت اللجنة الخاصة IUPAC بتجميع ونشر الطرق المتاحة التي يجب ان تحقق الاشتراطات التالية :

١ - ذات تخصص وحساسية ودقة معقولة بالمقارنة بالكروماتوجرافى الغازى (GC) او الكروماتوجرافى السائل (L.C) .

٢ - تعطى معلومات واقعية عند الكشف عن المخلفات في تحديد المركب الاصلى مع اهم المركبات المتحولة والنتيجة عن الانهيار .

٣ - تكون قادرة على تقدير المخلفات كيميا باستخدام طرق مختلفة مع زيادة التكنولوجيا .

٤ - تكون ذات فائدة في تحديد المخلفات فى مجال التجارة الدولية للسلع أو فى الغذاء فى داخل البلد المجهول الخلفية عن استخدام المبيدات .

٥ - لا تتطلب الطريقة توفر غازات مضغوطة أو كميات كبيرة من المذيبات أو مذيبات ذات نقاوة غير متوفرة وغير شائعة .

٦ - تستخدم أجهزة غير مكلفة نسبيا بالمقارنة بالـ GC أو LC .

وهذه المتطلبات يمكن ان تتحقق بعدد قليل من الطرق مثل كروماتوجرافى الألواح الرقيقة TLC أو الطرق الاسيكترومترية فى مجال الضوء المرئى . وهناك طرق اخرى قد تصلح تحت ظروف معينة .

خطوات التحليل المناسبة Suitable procedures

جميع طرق تحليل مخلفات المبيدات تتضمن الاستخلاص والتنظيف وما يتبع ذلك من خطوات التقدير . وفى كل حالة فان الخطوة الاخيرة تتطلب ضرورة التنقية للمستخلصات وكذلك درجة التنظيف . والطرق المنشورة لا تعنى ان تستخدم فقط فى المجال الذى تناولته ولكن يصح من المميزات دمج خطوات من طرق مختلفة . وبالإضافة الى ذلك يمكن لبعض طرق التحليل ان تقوم بتحليل مدى اوسع من هذه المخلفات . تعتبر طريقة الكروماتوجرافى ذات الألواح الرقيقة TLC من اكثر الطرق مناسبة للكشف عن مجموعة من المبيدات المختلفة فى التحليل المتعدد وهى بسيطة وسريعة وحساسة وهى ذات تخصص كافى وهى تتساوى ان لم تتفوق على العديد من الطرق الاخرى خاصة فى خطوات التقدير من حيث السرعة والتكاليف (مرجع - ١) . طريقة TLC ذات قيمة خاصة للكشف وتعريف المخلفات بينما التقدير الكمي يكون محدودا . والتطوير الحديث للـ TLC الكمية للمبيدات (مرجع - ٢) وكذلك ائوماتيكية تقدير مخلفات المبيدات (٣) زادت من فائدة TLC للتقدير الكمي . ولقد استخدم هذا التكنيك على نطاق واسع ولستوات عديدة لتأكيد التعريف الخاص بمخلفات المبيدات التى كشف عنها بالطرق الاخرى مثل الكروماتوجرافى الغازى GC (٤) .

بالنسبة لطرق الكشف المتعدد عن المركبات الكلورينية وصفت طرق TLC مناسبة فى العديد من الدوريات (٥ و ٦ و ٧ و ٨) . وجميع هذه الطرق تعتمد على فصل المبيدات ونواحي تمثيلها على طبقات السليكا جيل أو الألومينا مع استخدام نظم مذيبات غير قطبية مثل اثير البتروليم او مخاليط اثير البترول مع الاسيتون أو الداي ايثيل اثير أو الايثانول . والكشف عن المركبات المفصولة عادة يتم باستخدام تترات الفضة والاشعة فوق بنفسجية UV وهى تسمح بالكشف عن مخلفات فى حدود ٠.٠١ ملجم/كجم فى معظم الحالات .

بالنسبة للمبيدات الفوسفورية العضوية ونواحي تمثيلها (مثل الاوكسون والسلفوركسيد والسلفونات) تستخدم السليكا جيل ويعتمد نظام المذيبات العضوية على قطبية المركبات التى يراد الكشف عنها . بالنسبة للجواهر الكشافه الملونة يستخدم ٤ (بارا - نيتروبنزيل) بيريدين أو ٢ و ٦ داي بروم - ن - كلورو - بارا - كوينونيجين وغيرها . وفى العديد من الحالات يوصى باستخدام الكشف الانزيمى حيث يمكن تقليل عمليات التنظيف بدرجة كبيرة (٩ و ١٠) وطرق الكشف عن الكاربامات يناسبها الطرق الانزيمية .

توجد طرق TLC مناسبة في المتناول (II) لتحليل مخلفات مبيدات الحشائش مثل أحماض الكلوروفينوكسى الكانويك والثريازين واليوريا والكاربامات .

والتقدير الكمي عادةً يعنى بالكشف المقارن لحجم البقع المفصولة مع المركبات القياسية ويمكن الحصول على نتائج أكثر دقة باستخدام مقياس الكثافة للبقع .

في المقابل للـ TLC تعطى الطرق الاسيكترومترية تقديرات كمية فقط . فيما عدا التخصص في تكوين اللون فان الطرق الاسيكتروفوتومترية تفتقر الى التخصص ومن ثم تكون أكثر حساسية للمواد المتداخلة (١٢) . لذلك تكون الطرق الاسيكتروفوتومترية مفيدة عندما تندمج مع TLC كوسيلة تأكيدية Confirmatory .

عندما لا تتوفر طريقة التحليل المناسبة أو البحث عن بديل للطرق القائمة يمكن استخدام طرق التقييم الحيوى biological assay (١٣ و ١٤ و ١٥) . وبالرغم من ان هذه الطرق غير متخصصة الا انه سهل دمجها مع TLC مما يزيد من سرعة التحليل .

لقد نشرت لجنة IUPAC المختصة بكيمياء المبيدات مختصراً عن تطوير وتقييم طرق الكشف المبسطة لمخلفات المبيدات (١٦) . وخلصت الى ضرورة واهمية تطوير طرق تحليل متعددة الأغراض تعتمد على الاجهزة والإمكانات البسيطة كما تتميز بالسرعة وقلة التكاليف .

References : قائمة المراجع

- 1 . C.E. Mendoza, Residue Rev. 50, 43 (1974).
- 2 . J.D. McNeil, R.W. Frei, J. Chromatogr. Sci. 13, 397 (1975).
- 3 . B.A. Karlhuber, D.O. Eberle, Analyt. Chem. 46, 1094 (1975).
- 4 . M.S. Schechter, Pestic. Monit. J. 2, 1 (1968).
- 5 . Pesticide Analytical manual, Vol. I, U.S. Department of Health, Education and Welfare, FDA (1977).
- 6 . Analytical Methods for Pesticide Residues in Food Canada Department of National Health and Welfare, Ottawa (1973).
- 7 . Deutsche Forschungsgemeinschaft : Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, Verlag Chemie, Weinheim, 1977.
- 8 . Klisenko, M., ed. Methods for Determination of Pesticide Residues in Foodstuffs, and Environmental materials, Moscow "Kolos", (1977) pp. 368.
- 9 . C.E. Mednoza, J.B. Shields, J. Agr. Food Chem, 21, 1978 (1973).
- 10 . H. Ackermann, J. Chromatogra, 36, 309 (1968).
- 11 . G. Yip, J. Chromatogr. Sci. 13 (5) 225 (1975).
- 12 . G.E. Keppel, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 52, 162 (1969).
- 13 . S. Nagasawa, Ann. Rev. Entomol. 4, 319 (1959).
- 14 . W.M. Hoskins, R. Craig, Ann. Rev. Entomol. 7, 437 (1962).
- 15 . R.C.C. Wegman, M.D. Northolt and P.A. Greve, Mededed. /Rijksfac. Landb. Gent. 40, 1077 (1975).
- 16 . V. Batora, S. Lj. Vitotovic, H., Thier, M.A. Klisenko, IUPAC Report on Pesticides (13) Development and Evaluation of Simplified Approaches to Residue Analysis (1981).

الفصل العاشر

– عمليات التحليل الجيدة لتقدير مخلفات المبيدات

Good analytical practice in the determination of pesticide residues

– القائم بالتحليل The analyst

– المتطلبات الأساسية Basic resources

– المعمل The laboratory

– الأجهزة والمعدات وعناصر التشغيل Equipments and supplies

– عناصر التشغيل Supplies

– الأجهزة المناسبة Adequate equipments

– التحليل The Analysis

* تجنب التلوث Avoidance of contamination

* التلوث من البيئة المحيطة في المعمل

Contamination from the working environment.

* التلوث عن طريق التحليل المستخدم

Contamination from the procedure being used.

* تجنب التلوث Avoidance of contamination

* التلوث من البيئة المحيطة في المعمل

Contamination from the working environment.

* التلوث عن طريق التحليل المستخدم

Contamination from the procedure being used.

* تجنب الفقد Avoidance of losses.

* الفقد خلال التحليل Losses during analysis

– صلاحية الطرق Validation of methods.

– المحافظة على كفاءة التحليل

Maintenance of over-all analytical performance.

– دراسات الاسترجاع Recovery studies.

- اختبار لتحديد دور التداخلات Blank responses of interferences
- ثبات المواد القياسية Stability of standards
- تحليل عينات المقارنة Analysis of check samples
- الاشتراك في دراسات مشتركة / اختبارات الحلقة
- Participation in collaborative studies/ring tests.
- الاختبارات التأكيذية Codfirmatory tests
- مصادر الاخطاء المسؤولة عن اختلاف بيانات المخلفات
- Sources of error which contribute to variability of residue data.
- التأكيد Confirmation
- الحساب Calculation
- الاخطاء Errors
- تدوين النتائج Reporting results
- تقرير عن تجربة تحليل مخلفات المبيد - الجزء الثاني (B) الخاص بالتحليل .
- * تعريف العينة .
- * التحليل .
- * النتائج .
- رسم تخطيطي لمراحل تحليل المبيدات
- الاحتياجات والمتطلبات .
- الرموز والقواعد
- الاستخدامات
- اسلوب وصف العمل داخل المعمل .
- تمثيل الطرق البديلة .
- نماذج الطرق الالية .

عمليات التحليل الجيدة لتقدير مخلفات المبيدات

Good Analytical Practice in the determination of Pesticide Residues

لقد عرفت دلائل التحليل الجيدة GAP هذا المفهوم في ثلاثة اتجاهات تشمل القائم بالتحليل Analyst والمتطلبات الأساسية Basic Resources وكذلك طرق التحليل : The Analysis

* القائم بالتحليل The Analyst :

يتكون تحليل مخلفات المبيدات من سلسلة من الخطوات معظمها معروف او مفهوم جيدا من قبل الكيميائي المتمرن ونظرا لان مجال الخطأ قليلا بالمقارنة بما هو موجود في الانواع الاخرى من التحليل وای خطأ يمكن ان يؤدي الى عدم صلاحية التحليل الكلي لذلك يمكن الامام بكل تفاصيل خطوات التحليل . يجب ان تكون هناك استمرارية واشتراك مناسب للقاتمون على التحليل وهم في حاجة كبيرة للتدريب والخبرة في التحليل خلال سنوات كافية . يجب ان يتدرب مسؤولي التحليل على الاستخدام الصحيح للأجهزة والمهارات العملية الاساسية وكذا اساسيات تحليل مخلفات المبيدات ويجب عليهم ان يفهموا الغرض من كل خطوة من خطوات التحليل المستخدمة واهمية اتباع الطريقة بحذافيرها كما وصفت تماما ومراعاة اية مسببات قد تغير من النتائج . كما ان الفهم الواضح للمصطلحات والمسببات في مجال تحليل المخلفات يجب ان يقضى من سيقومون بهذا العمل الناحية النموذجية انه عند انشاء معمل لتحليل المخلفات يجب ان يقضى من سيقومون بهذا العمل بعضا من فترة التدريب في معمل مجهز ويعمل جيدا وبه خبرات على درجة عالية من الكفاءة . واذا كان المعمل سيضطلع بمهام تحليل مدى واسع من مخلفات المبيدات قد يصبح من الضروري ان يتمرن العاملون في اكثر من معمل متقدم واحد .

المتطلبات الاساسية Basic Resources

: The Laboratory المعمل

في الظروف النموذجية يجب ان يصمم المعمل بحيث يكون الهدف من انشاؤه واضحا الا وهو التحديد الدقيق للمناطق ذات الامان العالي والتي يكون فيها فرصة تلوث العينات بالمخلفات اقل ما يمكن . وكذلك يجب ان تكون مكونات المعمل مجهزة من مواد تقاوم فعل الكيماويات التي قد تستخدم فيها . وفي هذه الظروف النموذجية يجب توفر حجرات منفصلة لاستقبال العينات وتخزينها وتجهيزها للاستخلاص والتنظيف وللأجهزة المستخدمة في خطوات التقدير . والمنطقة المعدة للاستخلاص والتنظيف يجب ان توائم مواصفات المذيبات العملية وكذلك امكانيات ووسائل استخلاص الابخرة والتي يجب ان تكون من نوعية جيدة . واقل متطلبات تحليل مخلفات المبيدات تلك التي تتمثل في توفر الإمكانيات المناسبة لتفادي حدوث التلوث .

يجب ان يؤخذ فى الاعتبار امان المعمل من مفهوم ضرورة توفير الظروف المناسبة والتي تتمشى مع المعامل المتقدمة مع التسليم بان الظروف السائدة فى معمل ما قد لا تتوافق بالمرّة مع المعامل الأخرى . لا يجب السماح بالتدخين او الاكل او الشرب او استخدام مواد التجميل فى منطقة العمل . ويجب الا تترك إلا كميات صغيرة من المذيبات فى منطقة العمل حيث تخزن بقية المذيبات فى اماكن منفصلة عن منطقة العمل الرئيسية . يجب تجنب استعمال المذيبات السامة والجواهر الكاشفة طالما كان ذلك ممكنا . يجب تخزين المذيبات التالفة بأمان ويتخلص منها باستمرار .

يجب معاملة منطقة العمل الرئيسية كمعمل للمذيبات وجميع الاجهزة مثل مصادر الاضاءة والخللاطات والشلاجات تكون منفصلة عن بعضها من حيث مصدر القوى . يجب اجراء الاستخلاص والتظليل وتركيز المستخلصات فى منطقة جيدة التهوية ويفضل ان تكون داخل خزانات الغازات .

يجب عمل مصافى امان عندما تستخدم الادوات الزجاجية تحت ضغط او تفريغ . كما يجب ان يكون هناك مصدر مرفوق به للتزويد بالزجاجيات المأمونة والقفازات وغيرها من الملابس الواقية وامكانيات غسيل الطوارئ ووحدات الشطف والغسيل الجاهزة . يجب على العاملون فى المعمل ان يتدربوا على استخدام هذه الوسائل مع الالام الكافى بالأخطار الممكنة . والعاملون لابد ان تكون لهم دراية بان العديد من المبيدات ذات صفات سامة وان هناك خطر بسيط قد يحدث من جراء تداول معظم العينات كما يجب اتخاذ العناية الكافية عند تداول المركبات القياسية . ويجب ان يزود المعمل باجهزة اطفاء الحريق المناسبة . ويجب ان يتعرض العاملون بالمعمل للفحوصات الطبية بصفة دورية . واذا كان المعمل مزود بكاشفات الكهرونية تحتوى على التريتيوم يجب الكشف الدورى عن H3 فى البول .

*** الاجهزة والمعدات وعناصر التشغيل Equipments and supplies**

**** عناصر التشغيل Supplies :**

يجب تزويد المعامل بعناصر التشغيل مثل الكهرباء والماء والغازات المختلفة سواء فى انابيب او اسطوانات ذات جودة عالية . ومن الضرورى تزويد المعامل بصفة منتظمة بالجواهر الكاشفة والمذيبات والادوات الزجاجية والايوساط الثابتة ... وغيرها . كما يجب توفير خدمات صيانة واجهزة الكروماتوجرافى الغازى والموازين والاسبيكتروفوتومتترات ... الخ . كما يجب الاحتفاظ ببعض قطع الغيار وكذلك بعض الاجزاء الأخرى .

**** الاجهزة المناسبة Adequate equipment :**

فى الحالة النموذجية يجب ان تكون الاجهزة متمشية مع التكنولوجيات الحديثة مثل

الكروماتوجرافي الغازي المزود بالكمبيوتر وهذا الجهاز يتطلب صيانة كافية لكي يؤدي العمل بطرق مرضية . ان متطلبات استكشاف المخلفات في السلع عند المستويات المسموح بها اقل صرامة من تلك المطلوبة في البحوث . جميع المعامل تتطلب مدى مناسب من المبيدات القياسية ذات نقاوة معروفة وعالية . يجب ان يغطي هذا المدى جميع المركبات الاصلية التي يقوم المعمل بالكشف عنها وكذلك نوايج التمثيل الاكثر شيوعا ومعظم هذه المركبات موجودة حالياً على المستوى التجاري .

* The Analysis التحليل :

** تجنب التلوث Avoidance of contamination

من اكثر الاسباب شيوعا والتي تؤدي الى اختلاف نتائج تحليل مخلفات المبيدات عن نتائج التحليل الاقل دقة macro analysis مشكلة التلوث . ان وجود آثار من اى ملوث في العينة النهائية التي تستخدم في مرحلة التقدير النهائية قد تحدث زيادة في نسبة الخطأ كأن تعطى نتائج ايجابية زائفة وقد تؤدي الى فقد حساسية الطريقة والتي تمنع القائل بعملية التحليل من تحقيق الحدود الضرورية للتقدير . التلوث قد ينشأ من البيئة أو من طريقة التحليل .

** التلوث من البيئة المحيطة في المعمل

Contamination from the working environment

دهانات الرفوف والشموع والدهون الحارقة والصابون المحتوى على مضادات الجراثيم والرش ضد الذباب والعطور ومواد التجميل جميعها اشياء تزيد من تلوث المعمل وتكون ذات تأثير كبير عندما يستخدم كاشف صائد الالكترونات في جهاز الكروماتوجرافي الغازي . وليس هناك حل حقيقي لهذه المشكلة الا بايقاف استخدام هذه الاشياء .

الشحوم والبلاستيكات واغطية الكاوتشوك والانابيب الكاوتشوك والزيت من الخطوط الهوائية واوانى الإستخلاص واوراق الترشيع والصوف الزجاجي يمكن ان تزيد من تلوث محلول الاختبار النهائي .

يجب تخزين العينات القياسية للمبيدات في غرفة منفصلة عن معمل التحليل الرئيسى . العينات الحقلية ومجهز العينات وتحليل المستحضرات يجب ان تجرى منفصلة عن معمل تقدير المخلفات الرئيسى وكل منها منفصل عن الآخر .

** التلوث من طريقة التحليل المستخدمة

Contamination from the procedure being used

تلوث الادوات الزجاجية والحقن واعمد الكروماتوجرافي الغازى قد تنتج من العينات السابقة . جميع الادوات الزجاجية يجب ان تنظف بالمنظفات وتغسل بعناية ثم تشطف بالمذيب . ويجب ان تتوفر فى العمل كمية من الزجاجيات لتحليل مخلفات المبيدات . الجواهر الكاشفة الكيميائية ومواد الامتصاص ومذيبات المعامل قد تحتوى على مكونات تتداخل مع التحليل . ومن الضرورى ان تجرى عمليات تنقية للجواهر الكاشفة ومواد الامتصاص عن طريق التسخين ومن الضرورى استخدام المذيبات المعاد تقطيرها . الماء الغير متأين عليه شكوك والماء المعاد تقطيره يفضل . وفى حالات كثيرة يمكن استخدام ماء الحنفية أو الآبار .

لا يجب السماح باستخدام اى اجهزة تحتوى على ال PVC فى معمل تحليل المخلفات . المواد الاخرى المحتوية على بلاستيك مثار شك ولكن مشتقات PTEE وكاوتش السليكون عادة تكون مقبولة والاخرى تقبل تحت ظروف خاصة والعبوات المحتوية على العينات المخزنة قد تسبب التلوث والعبوات الزجاجية مع الاغطية الزجاجية الخاصة دائماً ما تستعمل . ان طبيعة واهمية التلوث قد تختلف تبعاً لنوع التقدير المستخدم ومستوى مخلفات المبيدات المطلوب تقديرها . والمشاكل المتعلقة بالتلوث والتي ترتبط اهميتها بطرق التقدير التى تعتمد على الكروماتوجرافي الغازى او HPLC قد تكون اقل اهمية اذا تم التقدير بالطرق الاسبكتروفوتومترية والعكس صحيح . مع المستويات العالية من المخلفات فان التداخلات التى قد تحدث من المذيبات وغيرها من المواد تصبح غير مؤثرة معنوياً بالمقارنة بكمية المخلفات الموجودة . بينما يمكن حل العديد من المشاكل باستخدام الكاشفات المتخصصة . اذا لم تتداخل الملوثات مع المخلفات الموجودة فان وجودها قد يصبح مقبولاً .

***** تجنب الفقد Avoidance of losses**

الفقد خلال التخزين Losses during storage

فى الظروف النموذجية يجب ان تخزن العينات تحت ظروف حرارة معتدلة البرودة بعيداً عن ضوء الشمس المباشر كما يجب ان تحلل فى خلال ايام قليلة . وتحت بعض الظروف قد تتطلب العينات التخزين لفترة اطول (٦ - ٩ شهور) قبل التحليل وهنا يجب اتخاذ الاحتياطات التالية :

حرارة التخزين تقارب - ٢٠ م عندما يكون انهيار مخلفات المبيدات بفعل الانزيمات منخفضاً جداً . واذا كان هناك أية شكوك يمكن مقارنة العينات بتلك المقواة بنفس المبيد والمخزنة تحت نفس الظروف . يجب اعادة تجانس جميع العينات بعد التجمد حيث هناك ميل للماء ان يخرج ويتجمع كبلولوات للجمد . وهذه اذا استبعدت ستؤثر على نتائج التحليل . والبدليل لتجنب هذا الوضع ان تقسم العينة الى وحدات للتحليل قبل التجميد . يجب الا تسمح للعبوات المستخدمة للتخزين ولا السدادات للمادة الكيميائية المحتوية عليها بالتسرب . العبوات لا يجب ان تسمح بالتسرب . جميع العينات يجب ان ترقم بوضوح ببطاقات دائمة وتسجل فى سجل العينات .

* الفقد خلال التحليل Losses during analysis

المستخلصات ومحاليل الاختبار النهائية لا يجب ان تتعرض لضوء الشمس المباشر .

** صلاحية الطرق Validation of methods :

يختلف المجهود الذى يبذل لتحقيق صلاحية الطرق بدرجة مؤثرة . فى المعامل التى تقوم بالاستكشاف الروتيني للمخلفات تبعا لمستويات الدستور او تلك المحددة على المستوى القومى تستخدم طرق قياسية فى معظم الحالات ومن ثم تكون مجهودات الصلاحية اقل ما يمكن . فى جميع المعامل تجرى اختبارات منتظمة عن التأثيرات التى تحدثها الاختلافات فى مصادر توريد الكيماويات والمذيبات وغيرها . يجب اختبار كفاءة الطريقة عن طريق استرجاع المبيد القياسى الذى يضاف بمستويات مناسبة الى العينة وحدها او فى وجود كل من المواد الوسيطة . يجب دراسة تأثير الضوء والتخزين عند مرحلة وسيطة من خطوات التحليل والحرارة وغيرها على ثبات الجواهر الكشفية والعينات . من الاهمية بمكان تقييم كفاءة نظم التقدير (مثال ذلك الكروماتوجرافى الغازى والسائل) من حيث تأثير معدل الانسياب والحرارة .. الخ . وفى المعامل التى يجرى فيها تطوير و / أو تحويل للطريقة السائدة يجب دراسة تأثير بعض العوامل الاخرى مثل تأثير اختلاف حجم العينة ونسب التوزيع .. الخ وكذلك كفاءة ومقدرة الفصل وثبات العمود فى نظم الكروماتوجرافى السائل والغازى وكذلك الاختلافات فى كفاءة نظم اعمدة التنظيف .

** احاطة على كفاءة التحليل

Maintenance of Over-all Analytical performance

يوجد فى جميع المعامل المعنية بتحليل مخلفات المبيدات حاجة لتقييم كفاءة الطرق المستخدمة فى التحليل بصورة منتظمة على مستوى الحدود المسموح بها tolerance او فى اقل حدود للتقدير .

* دراسات الاسترجاع Recovery studies :

يجب استرجاع المبيدات من العينات المقواة Spike samples كاختبار شائع لقياس كفاءة الاستخلاص والخطوات التالية ولكن تجدر الاشارة الى ان هذه الدراسات ذات قيمة محدودة . ومعظم الآراء تعول على اجراء الاسترجاع على المخلفات فى حالتها الحقيقية real state اى فى مجموع العينات aged . وتجدر الاشارة كذلك الى ان الطريقة التى تعطى استرجاع مناسب من العينات التى عوملت او قويت باضافة المركبات الاصلية من المبيدات قد تكون غير مناسبة لقياس نواتج التمثيل المؤثرة والتى تتكون خلال الاحتفاظ بالعينة . ويجب ان تتراوح نسبة الاسترجاع من 70 - 110 ٪ بمتوسط يزيد عن 80 ٪ بعد ازالة الشوائب .

* * اختبار لتحديد دور التداخلات Blank responses of interferences :

التحليل الدورى المنتظم للأوساط المعروف خلوها من مخلفات المبيدات ذات ضرورة للتأكد من عدم حدوث تلوث .

* * ثبات المواد القياسية Stability of standards

ان الحقن المنتظم للمركبات القياسية خلال تحليل مجموعات العينات تسمح بالتأكد من كفاءة خطوة التقدير . بالإضافة الى ذلك يجب اتخاذ العناية للتأكد من ان المحاليل القياسية للمبيدات لا تتحلل من جراء تأثير الضوء او الحرارة خلال التخزين او تتركز نتيجة لتبخير المذيبات . يجب اتخاذ نفس العناية للتأكد من ثبات المركبات القياسية المرجعية .

* * تحليل عينات المقارنة Analysis of Check samples :

من افضل الوسائل لاستكشاف كفاءة طريقة التحليل (أو القائم بالتحليل) هو تحليل عينات مقارنة على فترات منتظمة . وهذه العينات يجب ان تقدم كعينات روتينية بدون اى علامات أو توضيحات تدل على طبيعتها .

* * الاشتراك فى دراسات مشتركة / اختبارات الحلقة

Participation in collaborative studies/ring tests

تنظم مختلف الهيئات القومية والدولية دراسات مشتركة على طرق خاصة أو / و اختبارات الحلقة على مواد وسيطة خاصة . وهذه الدراسات تقدم اسلوب نموذجى فى المعامل لتقدير كفاءتها الخاصة . وإذا كان فى الامكان تؤخذ عينات مشتركة توزع بشكل روتينى حتى لا يضطر القائم بالتحليل لعمل جهد خاص مما قد يفقد العينات صلاحيتها فى الكشف عن كفاءة المعمل .

* * الاختبارات التأكيديّة Confirmatory tests :

بالنسبة للاختبارات الروتينية عندما يكون مدى القيم الناتجة على الاقل ولحد معين معروفة قبل اجراء الاختبارات لذلك لا يكون للاختبارات الروتينية اية اهمية . وفى حالة ما اذا كانت هناك شكوك فان صلاحية النتائج تكون فى حاجة لاختبارات تأكيدية . وهذه الاختبارات يمكن ان توضع تحت عدد من السبل مثال ذلك :

- استعمال الفصل الجزئى بالمذيبات مثل قيم « أ »

- استعمال اعمدة الكروماتوجرافى الغازى المتعددة . وبالرغم من ان هذا الاسلوب مستخدم على نطاق واسع الا ان قيمته محدودة لأنه فى جميع الحالات تكون اساسيات الطريقة

الكروماتوجرافية متماثلة .

- استعمال طرق كروماتوجرافية مختلفة . فى حالات عديدة يمكن تأكيد النتائج التى تحصل عليها من الكروماتوجرافى السائل ذى الكفاءة العالية HPLC . وكلاهما له مميزات واضحة تفوق الكروماتوجرافى الغازى فى بعض الحالات خاصة اذا كان التحليل يتضمن مواد غير ثابتة حراريا . ويقدر الامكان يفضل ان تجرى الاختبارات التأكيدية بدلا من الاعتماد الكلى على كفاءة اعملة الكروماتوجرافى الغازى كطريقة للتمريض .

- استعمال كاشفات مختلفة .

- استعمال طرق التحول الكيميائى derivatisation . هناك طرق عديدة وكتيبات متوفرة عن انواع التحولات الكيميائية التى يمكن عملها . ومن الطرق المشتركة استخدام الاشعة فوق بنفسجية لتغيير التركيب الكيميائى للمركب تحت الدراسة .

- الكروماتوجرافى الغازى مع اسبكترومترى الكتلة GC-mass spectrometry من اكثر الطرق شيوعا فى المعامل جيدة التجهيز ولكنه غير متوفر فى غالبية معامل تحليل المخلفات .

- طرق الفصل الكروماتوجرافى الغازى السائل الاولى وهى تعطى تعريف عن مكونات المخلفات حيث انها تعتمد على مواصفات المخلفات الموجودة .

مصادر الأخطاء المسببة عن اختلاف بيانات المخلفات :

Sources of error which contribute to variability of residue data.

الطريقة المعملية لتقدير تركيز المخلفات عبارة عن سلسلة متتابعة من الخطوات والأخطاء المنتظمة والعشوائية التى قد تحدث مع كل منها . الخطوات النموذجية التى تحدث بعد استقبال العينة فى المعمل هى بالترتيب :

sub-sampling تجزئ العينات -

extraction الاستخلاص -

clean-up steps خطوات التنظيف -

التحليل بما فيها تجهيز واستخدام المحاليل القياسية Analysis (standard solutions)

Confirmation

– التأكيد

Calculation

– الحساب

ان العمليات التى تجرى على العينات الاصلية هى نفسها التى تجرى على العينات المجزأة بمعنى ان كل جزء أو قطعة من العينة يجب ان يكون لها نفس الفرصة المتاحة لعينة التحليل . من الاهمية أخذ عينة مجزأة (تحت عينة) ذات حجم مناسب . عن طريق الطرق الحديثة اصبح فى الامكان تحليل عينة صغيرة جدا ومع هذا يعتبر هذا التحليل ذو قيمة عملية قليلة . طرق أخذ عينات مجزأة ممثلة موجودة فى دوريات تحليل مخلفات المبيدات المنشورة فى دول عديدة ومنها Pesticide analytical manual of the US food and drug administration وفيها كل تفصيلات الاختبارات المشتركة .

يمكن تقسيم طرق الاستخلاص الى نوعين الاول الذى يستهدف ازالة كل المخلفات من العينة حيث يؤخذ كمية كبيرة من المادة النباتية فى المحلول والثانية تحاول ازالة مخلفات معينة بالاختيارية وهذا يستدعى مجهودات لتقليل تركيز المواد المتداخلة وهى تسمح بجعل كفاءة استخلاص المخلفات غير كمى . وبوجه عام يفضل الاختيار او القسم الاول خاصة مع المبيدات التى تمتص او تتركز فى اجزاء خاصة من المواد الغذائية او التى تنهار الى مركبات ذات صفات طبيعية مختلفة .

ان الدراسات التى تستهدف تحقيق استخلاص كامل لمخلفات المبيد من الوسط الموجود فيه يجب ان تكون جزء اساسى وهام عند تطوير الطريقة المناسبة للتحليل . يمكن تقدير درجة كفاءة استخلاص المخلفات عن طريق الاستخلاص من العينات الميدانية Weathered residues الناتجة من استخدام المبيد على المحصول النامى بطرق تزيد من البساطة . ويمكن اجراء التطبيق بالمركب المشع او غير المشع . استخدام المركب المشع radio-labelled ذات ميزة حيث يمكن تقدير كل المخلفات واى مادة مشعة باقية بدون استخلاص مع اى طريقة خاصة يمكن الكشف عنها . بالاضافة الى ذلك يعنى وجود المادة المشعة ان نواتج التكسير يمكن تعريضها وتقدير كفاءة استخلاص مخلفاتها . وعلى العكس فان المركب الغير مشع وضعت له افتراضات مؤداها ان معظم الطرق تزيل المركب تماما وان المذيبات والطرق الاخرى تقارن به كأساس .

بالنسبة للمركبات التى يصعب استخلاصها مثل المخلفات المنقولة فى الجذور تكون العوامل المؤثرة هى المذيب المناسب والتلامس الكافى بين المذيب والمخلفات وكذلك المكون القطيى اذا كان مخلوط المذيب يحرق المخلفات ويحتمل الحرارة .

اذا استخدمت طرق للاستخلاص الكمى فان خطوات التنظيف المتتالية قد تؤخذ فى الاعتبار وهذا هو الجزء الذى يستغرق معظم وقت طريقة التحليل حيث احتمال حدوث اخطاء معروفة كبير . ومن الاهمية بمكان عند هذه المرحلة اجراء تحليل لعينات لتقدير الاسترجاع فى كل مجموعة

تقدير للتأكد من حدوث أى فقد .

تحدث الأخطاء خلال مراحل متعددة من التحليل الخاص بتقدير المخلفات وفي خطوة التقدير نفسها . وعلى سبيل المثال مع الكروماتوجرافى الغازى فإن أساس معظم طرق تقدير المخلفات يتمثل فى حجم من مستخلص العينة بمحقق ذات نسبة خطأ عشوائى قليل والتي يمكن تصحيحها إذا استخدم نفس الحجم من المحاليل القياسية عند المعايرة . وربما يكون أكثر الأخطاء خطورة تلك التى تحدث فى الطرق الكروماتوجرافية لأن المواد الموجودة فى المستخلصات co-extracted ذات صفات متماثلة لتلك المميزة للمبيد تحت الدراسة من حيث مواصفات الفصل Retention characteristics تحت نفس ظروف عملية التقدير . وهذا التداخل يعنى أن أى قمة منحني peak موجودة عند زمن الفصل الصحيح قد تكون ممثلة للمبيد أو تمثل المواد المتداخلة أو مخلوط من الاثنين . لذلك فإن كمية المبيد المقدر من أى قمة منحني منفردة على الكروماتوجرافى دائماً تمثل أقصى مستويات ممكن للمخلفات المقاسة تحت هذه الظروف وليس من الضروري أن تمثل التركيز الحقيقى للمبيد .

من مصادر الخطأ التقليدى فى تحليل المستخلصات تجاهل نقاوة المادة القياسية المستخدمة فى التحليل وتصحيح تركيزات المحاليل الأولية والمستخدمة فى الطريقة . ليس مطلوباً أن تكون المواد القياسية المستخدمة فى تحليل المخلفات انقى ما يمكن ولكن المطلوب أن تكون النقاوة معروفة كما يكون ثبات المركب معروفاً تحت الظروف التى سيخزن فيها . وهذا حقيقى كذلك فى حالة المحاليل القياسية حيث يجب أن يكون ثباتها معروف كما يجب تجديدها وإحلالها على فترات منتظمة .

التأكيد Confirmation :

يجب أن تبنى الطرق التأكيدية على الاقترابات والطرق التى تختلف بقدر الامكان عن طريقة التحليل الاساسية فى الاساميات الطبيعية والكيميائية . لذلك فإن وقت الفصل على وسط ثابت آخر فى جهاز الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC يعطى بعض التأكيدات ولكنها طفيفة حيث أن العديد من المركبات لها درجة عالية من الارتباط بين فترات الفصل على الاوساط المختلفة . وهناك طرق تعطى تأكيد واضح فيما يتعلق بتعريف المركب مثل طيف الكتلة . وهناك طريقة اخرى تعتمد على تحويل المبيد الى احد المشتقات التى تناسب الفصل الكروماتوجرافى اللاحق والعديد من طرق التحليل نشرت فى الحقبة الماضية .

الحساب Calculation :

فى الدراسات المشتركة وجد انه عندما يقدر تركيز المخلفات من صور ضوئية للخريطة الكروماتوجرافية المنحصل عليها من التحليل تكون دقة النتائج فقيرة بدرجة تثير الدهشة . ان وضع خط اساس مقبول acceptable base-line والتصحيح الخاص بالمواد المتداخلة (ذات القمم الصغيرة) يبدو انها تجرى فى ظل اختلافات واسعة تبعاً لإختيار الفرد . هذا الاتجاه بسيط ولكن هناك حسابات أكثر صعوبة فى الاصل مثل تعريف مخاليط قمم المنحنيات العديدة التى ظهرت

على الكروماتوجرام كما في حالة الكلورودان . ان الحساب بالنسبة للمركب القياسي الخارجى قد يعتمد على المساواة normalisation (اذا كان ذلك ممكنا) او على واحد أو اثنين من القمم او على وقت الفصل الطويل او القسم الخاصة بالعينات الغير ميدانية أو بالمقارنة مع المنتج التجارى . كل هذه الحسابات تعطى نتيجة مختلفة وكل منها يمكن اعتباره صحيحا .

على القائم بالتحليل ان يقرر ما اذا كان سيستعمل عامل التصحيح لتركيز المخلفات المحسوب تبعاً للإسترجاع خلال مراحل التنظيف والتقدير . فى تجارب الاسترجاع recovery التى تجرى جنباً الى جنب مع العينات المختبرة فان المبيد المضاف يمكن استرجاعه بشكل كمى . اذا عمل حساب الاخطاء العشوائية التى تحدث فى اثناء التنظيف والتحليل يمكن اعتبار الاسترجاع كمياً اذا كانت النسبة الموجودة تقع بين ٧٠ - ١١٠٪ من تلك التى اضيفت فى البداية . اذا كان الاسترجاع اقل من ذلك ولكنه دقيق بناء على تجارب متعددة يمكن استخدام التصحيح الخاص بالاسترجاع . اذا كان الاسترجاع منخفضاً ومتغير يجب فحص خطوات الطريقة لمعرفة بعض العوامل الغير مرغوبة والتى تحدث فقدنا غير منتظماً .

التصحيح بالنسبة للعينة القياسية الخالية من المبيد Blank يعتبر سؤالاً صعباً فى مجال تحليل المخلفات . من غير المقبول خصم تركيز المخلفات الظاهري apparent فى العينة الغير معاملة (اذا كان هناك عينة غير معاملة) من التركيز فى العينة المعاملة . هناك اعتباران ، فى حالة واحدة فقط اذا كانت قمة منحى الفصل فى الكروماتوجرام الخاص بالعينة الغير معاملة ترجع الى التداخل من جراء مادة موجودة فى المستخلص co-extracted يكون السؤال هل يمكن التصحيح بالـ sBlank . بالرغم من صعوبة تأكيد ذلك خاصة انه ليس مستغرباً ان تحتوى عينة المقارنة على تركيز صغير من المبيد من جراء انجراف المبيد من مكان المعاملة أو تلوث العينة . اذا كانت قمة الفصل فى كروماتوجرام العينة الغير معاملة كما هو فى الوضع الحقيقى متسببة بالمبيد لا يجب اجراء تصحيح باستخدام عام الـ Blank .

الاعطاء Errors :

الاختلاف فى النتائج الخاصة بمخلفات المبيدات فى العينات قد تنشأ من عدد كبير من العوامل الغير مرتبطة ببعضها وكل منها قد يساهم فى احداث خطأ عشوائى او غير عشوائى او كلاهما معا . يمكن حساب الخطأ العشوائى الكلى من الأخطاء الفردية عن طريق قانون تزايد الأخطاء Law of propagation of errors حيث ان التباين الكلى يساوى مجموع الاختلاف الناتجة من العوامل الغير مرتبطة (التباين = مربع الانحراف القياسى) .

الخطأ المادى Systematic لأى طريقة يحدد دقة النتائج أو مدى قرب النتائج من القيم الحقيقية وكلما زاد الخطأ كلما قلت دقة الطريقة وكلما بعدت عن النتيجة الحقيقية . ان تجارب الاسترجاع تعتبر مقياس للخطأ المادى (مؤكد ان الطريقة تحقق استخلاص كمى نظراً لأن تجارب الاسترجاع لا تقيس الأخطاء فى عملية الاستخلاص) . فى معمل التحليل معروف الخبرة فى تحليل مخلفات المبيدات والذي يستخدم طرق صالحة ومناسبة فان الانحراف عن قيمة الاسترجاع

الكلى ١٠٠٪ فى متوسط مجموعة من تجارب الاسترجاع عادة تقل عن ١٠ ٪ . لذلك يمكن القول ان العديد من طرق تقدير المخلفات الشائعة الاستخدام والمشاركة تكون بالضرورة كمية .

من المكونات الاخرى للخطأ الكلى ما يعرف بالخطأ العشوائى random error وهو يحدد دقة نتائج اى طريقة وكذلك قربها من اى طريقة اخرى . وكلما زاد الخطأ كلما افتقرت الدقة وبعد النتائج بعضها عن الاخر . المقاييس العادية للخطأ العشوائى هى الانحراف القياسى والانحراف القياسى النسبى (نسبة الانحراف القياسى الى المتوسط) . ان قياس الخطأ العشوائى فى معمل ما فى حالة قيام متخصص واحد بالتحليل والحصول على نتائج متتابة عند استخدام نفس الجهاز وتحت ظروف تشغيل ثابتة على مادة اختبار متماثلة يسمى « تكرارية الطريقة Repeatability of the method » . بالنسبة لطرق تقدير المخلفات الشائعة الاستعمال والمقبولة بناء على الدراسات المشتركة يعبر عن تكرارية الطريقة على اساس الانحراف القياسى النسبى بالقيمة القصوى واحد . وهذه القيمة تتحقق مع العاملون ذوى الخبرة الكبيرة والعاملون فى معمل جيد التجهيز مع استخدام طرق مناسبة فى حدود التركيزات التى يكشفون عنها .

تدوين النتائج Reporting results

يعتمد هذا الجزء من تحليل مخلفات المبيدات بدرجة كبيرة على متطلبات الجهات المعنية بالتحليل ومن الصعب وضع قواعد صارمة لتدوين البيانات والنتائج او حتى عن الدقة المطلوبة . ومن المتفق عليه ان كلا من القائم بالتحليل ومن سيقوم باستخدام معلومات تحليل المخلفات يكونا على رضاء تام بقدرات الطرق المستخدمة وتمثيل النتائج والبيانات التى تسفر عنها قبل بداية العمل . يعتمد صلاحية تمثيل البيانات الخاصة بالمخلفات على المعلومات المتاحة عن كيفية تأثير العوامل المختلفة ودورها فى اختلاف النتائج . ومن ثم فان عدد التحليلات يجب ان تجرى لتوضيح مدى الخطأ الموجود كما يجب حساب الانحراف القياسى .

يجب ان تشمل جميع بيانات التحليل الناتجة من العينات ما يتعلق بالمركب الاصلى ونواجج التمثيل وليس مجرد ملخصات او ارقام متوسطات . كما يجب توضيح كيفية حساب المخلفات وسبل التعبير عنها .

فى حالة الضرورة يجب كتابة مذكرات توضيحية تشرح اسباب التفاوت فى النتائج . فى معظم السلع يجب التعبير عن مخلفات المبيدات ونواجج تمثيلها على اساس المركب الكلى كما هو مسوق تجارياً . او كما هو مجهز للتسويق ومثال ذلك الخضروات بدون الاوراق الخارجية او الخضروات الجذرية بعد ازالة الاجزاء الهوائية ... الخ .

يجب ان تعضد بيانات المخلفات بواسطة :

١ - وصف كامل وشامل او الاشارة لطريقة التحليل المستخدمة بما فيها الاجهزة والجواهر الكشفية .

- ٢ - بيانات عن تخصص الطريقة المستخدمة .
- ٣ - بيانات عن حدود التقدير فى الطريقة المستخدمة على السلعة المعينة .
- ٤ - بيانات كافية عن الاسترجاع على مستويات محددة ذات صلة بتلك التى توجد فى الواقع العملى .
- ٥ - قيمة العينة الغير معاملة (المقارنة) والانحراف القياسى الخاص بها بما فيها عدد العينات التى بنى على اساسها الانحراف القياسى .
- ٦ - توضيح ما اذا كانت النتائج تعرضت للتصحیح لم لا بناء على (المقارنة غير المعاملة) او معدل الاسترجاع أو كلاهما .
- ٧ - توضيح كافى عن المعاملات السابقة لخطوات التحليل والثى اجريت على العينة مثل الغسيل والتفتيش والتخلص من التربة أو أى طريقة تجهيز حدثت قبل التحليل . كل هذا يجب ان يذكر عن كمية مغلفات المبيد الموجودة .

FURTHER READING

قراءات اضافية

- Burke, J., and McMahon, B. "Analysis of Food for Residues of Pesticides", FDA By-Lines, No. 4. January 1977.
- Cochane, W.P., Whitley, W. The Canadian Check Sample Programme on pesticide Residue analysis : Reliability and Performance. Pesticide Residues, 1979, Pergamon Press.
- Car, M. Internal laboratory Quality Control in the Routine Determination of Chlorinated Pesticide Residues. Pesticide Residues, 1979 pergamon Press.
- Telling, G.M. Good Analytical Practice in Pesticide Residue Analysis. Proc. Analyt. Div. Chem. Soc. Jan. 1979.
- "Guidelines on Analytical Methodology for Pesticide Residues Monitoring", Federal Working Group on Pest Management, Washington, D.C. 20460, June 1975.
- Sherma, J. "Manual of Quality Control for pesticides and Related compounds in Human and Environmental Samples", USA Environmental Protection Agency, EPA 600/1 76 017. February 1976.
- "Pesticide analytical Manual", Volume 1, US Department of Health, Education and Welfare, food and Drug Administration.

تقرير عن تجربة تحليل مخلفات المبيد - الجزء الثاني (B) الخاص بالتحليل
الشخص او الاشخاص المسؤولون عن التحليل :

.....

* تعريف العينة Identity of sample :

المحصل السلعة	تعريف العينة او العدد
المبيد أو المبيدات المستخدمة على العينة أو السلعة	

* ظروف ومعاملات العينة أو العينات Condition and treatment of sample :

تاريخ استلام العينة أو العينات في المعمل	تاريخ أو تواريخ التحليل
طريقة التخزين وظروف العينة أو العينات جزء العينة أو العينات التي تحلل	

* التحليل Analysis :

طريقة التحليل (او المرجع) أو / و التحويرات الاستخلاص : التنظيف طريقة التقدير والتعبير عن المخلفات الاسترجاع حدود التقدير	
--	--

* النتائج Results :

معدل الجرعة الفترة من المعاملة وحتى اخذ العينات المخلفات* (بدون تصحيح للاسترجاع أو المقارنة) المقارنة (بما فيها الانحراف القياسي)	
---	--

أى معلومات اخرى مثل ثبات المخلفات تحت ظروف التخزين

* على صورة متوسطات او مدى او عدد التحليلات .

رسم تخطيطي لمراحل تحليل المبيدات

Schematic flow diagram for pesticide analysis

فى الغالب يكون وصف طريقة تقدير مخلفات المبيد طويلا ومعقدا نظرا لأنه يشتمل على العديد من الخطوات المتتابعة منذ بداية الإستخلاص وحتى التقدير والتأكد . ومن الناحية العملية يصعب تمييز النقطة أو الخطوة المتميزة من خلال التفاصيل التجريبية العديدة وصعوبة متابعة الفصائل الكثيرة والخلطات العديدة . ومن هنا المنطلق يصبح من الأهمية بمكان وجود اسلوب مختصر واضح لطريقة التحليل . والأشكال التخطيطية لمراحل التحليل المتتابعة Schematic Flow Diagrams تستخدم على نطاق واسع فى مجال الالكترونيات وتكنولوجيا الكيمياء وغيرها من فروع المعرفة ولكنها لم تستخدم بعد فى الكيمياء التحليلية بالرغم من النشرات الخاص بهذا الموضوع .

الاحتياجات والمتطلبات Needs and Requirements

تتحقق الرسوم التخطيطية لتحليل المبيدات بعض المتطلبات الأساسية والضرورية :

- أ - يجب ان تمثل طرق التحليل بالاساسيات وليس بنوعيه الاجهزة لأنها تتغير مع التقدم التكني .
- ب - يجب ان توضح خطوات الفصل خطوات التجزئة والعزلات Fractionations و Isolation وغيرها والتي يجب ان توضح طبيعة المواد المساعدة مثل المذيبات بالإضافة الى مكونات العينة .
- ج - مسارات النقل والانسباب يجب ان توضح ويتكامل بقدر الامكان .
- د - قواعد عمل خريطة العمل يجب ان تكون دقيقة بقدر الإمكان حتى يمكن استبعاد الاستنتاجات الخاطئة ولكنها تسمح كذلك باختيار أى الطريقتين اما التفصيلات او الاختصارات ..
- هـ - يجب ان تكون الرموز من عناصر بسيطة ما امكن تكفى لتسهيل التذكرة كما تكون سهلة الرسوم .

وبناء على هذه المعايير الخمسة وضعت المفاهيم التالية فى عام ١٩٦٠/٦١ باستخدام بعض العناصر الأساسية الموجودة فى النماذج القياسية الألمانية الخاصة بتكنولوجيا الكيمياء (DIN 7091) وتستخدم هذه الرسوم فى العديد من المجالات دون الحاجة لاجراء تغييرات ضرورية كما ثبت ضرورتها وملامتها للعمليات الخاصة بالتحليل فى المعمل .

الرموز والقواعد : Symbols and Rules

جميع العينات الاصلية والعينات الصغيرة Subsamples والفصلات Fractions تمثل بمثلثات وجميع طرق التحليل بمربعات ، جميع مساحات المادة تمثل بالاسهم (شكل ١) . عمليات التحليل توصف ببعض العناصر الاضافية التي يمكن ان تدمج بطرق عديدة (شكل ١ رقم ٤ - ١٠) . الخط الرأسى يمثل الفصل الطبيعي لوسطين موجودين والقسمين الناتجين فى المربع يمثل الوسطين والتي يمكن وصفهما بالعناصر S (I, 9) . لو تكون الوسطين بوسائل اخرى للفصل الجزئى يوصف النظام بخط افقى بعلامات متقاربة للوسطين . يستخدم القطر لوصف جميع التفاعلات الكيميائية كما يستخدم ايضا الرموز S (I, 9) . ومن النادر ان تستخدم الرمزين الاخيرين منفردين ولكنهما يستخدمنا غالبا مع بعضهما او مندمجين مع رمزين آخرين . ويرمز للوسط المتحرك بنصف سهم ، والخط المزدوج يرمز الى وجود مواد اضافية التي تساعد فى الفصل كما فى حالة المذيب او التفاعل الكيميائى مع جواهر كشاف .. وفى النهاية توصف جميع القياسات بشكل ثمانى الاضلاع يزود ايضا بالكمية المقدرة ووحدها والاختصارات الشائعة لها .

الاساسيات الضرورية لأساليب الفصل الحديث يمكن ان توصف بوضوح بدمج بعض العلامات والرموز (شكل ١ رقم ٢ ، ٦ ، ٧ ، ٨ ، ٩) وبطريقة تجعل المدخلات والمخرجات الخاصة بمادة التحليل واضحة كأشياء مرئية فى خريطة التحليل Flow sheet . ولعمل تفريمات وتوصيلات بين العمليات المختلفة تستخدم علامات مناسبة لتوضيح التشابك والارتباط بين العمليات كوحدة متكاملة (شكل ١ رقم ١١ ، ١٢) .

وليكن معلوما ان القواعد والرموز السابق الاشارة لها اجبارية والرسم التخطيطى المقترح يمثل الهيكل الاساسى لاي حالة ويمكن استكمالها وازداده عناصر اخرى .. مثال ذلك استخدام الضغط الزائد او التفريغ ويسمح كذلك باية تفسيرات شفهية عند الحاجة .

الاستخدامات Application :

القواعد الخاصة بعمل الشكل التوضيحي لطريقة التحليل تعطى الفرصة للاختيار بين التفصيل والاختصار وهو يفيد فى اغراض مختلفة داخل معامل التحليل .

* اسلوب وصف العمل داخل المعمل Procedure descriptions for lab. work

فى العمل اليومى يلعب الرسم التوضيحي دور التذكيرة المختصر لحظة العمل خاصة ما يتعلق بحجم العينات والفصلات والقياسات وغيرها (شكل ٢) . ويحتوى الرسم كذلك على قائمة مرئية ومسلطة زمنيا للجهاز (الأقماع - المرشحات .. الخ) والكيميائيات المطلوبة (مذيبات .. جواهر كشافة .. وغيرها) فى خطوات متتابعة للتحليل .

* تمثيل الطرق البديلة Presentations of alternative methods

فى بعض الاحيان تكون طرق تحليل المبيد معقدة وتمثل مشكلة نظرا لأن الطريقة المناسبة تعتمد على طبيعة العينات وتوفر الجهاز المناسب وغيرها من العوامل الأخرى . يمكن تمثيل الطرق البديلة فى رسم تخطيطى يستخدم فيه وسائل معينة مثل الرموز والعلامات الخاصة بقرار معين او حذف جميع الخطوات ذات الأهمية القليلة (شكل ٣) . وهنا توضح خطوات التحليل الضرورية بوضع خط تحتها ومن ثم تصبح نقاط القرارات الهامة والمؤثرة واضحة تماما .

* نماذج الطرق الآلية Flow patterns of automated methods :

التدفق المستمر للمادة خلال النظم الآلية مثال جهاز التحليل الذاتى (Auto analyser (R غالبا يحدث سوء فهم . لذلك فإن نموذج الانسياب مع التأكيد على معدلات الانسياب تساعد فى توضيح وفهم الأسلوب الخاص بالتحليل (شكل ٤) .





















استحدث أسلوب الشكل التخطيطى او انسياب خطوات التحليل لتسهيل مهمة القائم بالتحليل فى عمله اليومى وهو يحقق للمتطلبات والمعايير التى ذكرت من قبل والرموز والقواعد قابلة للتغيير والاجتهاد مع تقدم التقنيات الخاصة بالتحليل .

ومن الأفضل ان توضع الاشكال الأربعة كما هى وباللغة الانجليزية .

GENERAL SYMBOLS

- | | | |
|---|---|------------------------------|
| 1 |  | Samples subsamples fractions |
| 2 |  | analytical operations |
| 3 |  | transport pathways flows |

SPECIFYING ELEMENTS FOR ANALYTICAL OPERATION

- | | | | | |
|----------|---|---|---|---------------------------|
| s. l. g. | solid, liquid, gaseous phases | | | |
| 4 |  | solid surface | | |
| 5 |  | physical phase separation |  | filtration |
| 6 |  | two phase partition |  | head space analysis |
| 7 |  | chemical reaction |  | pyrolysis |
| 8 |  | mobile phase |  | distillation |
| 9a |  | additional auxiliary substances involved for separation |  | li - extraction |
| 9b |  | or for reaction |  | derivatization |
| 10a |  | measurement of a quantity A |  | PH value |
| 10b | | or a quantity with unit (a) |  | weighing in grams |
| 10c | | or of a relationship X |  | UV spectrum |
| | | some other examples for further combinations of symbol elements |  | gas/liquid chromatography |
| | | |  | distillation with reflux |
| | | |  | countercurrent partition |

SYMBOLS FOR THE NETWORK OF FLOWS







- | | | | | |
|-----|--|----------------|--|---|
| 11A |  | temporary node |  | fractionation e.g. from liquid chromatography |
| 11b |  | fixe node |  | continuous addition, e.g. of a reagent |
| 12 |  | decision node |  | different handling . e.g. according to other substances present |

Fig. 1. Construction of symbols from 12 basic elements and examples of application.

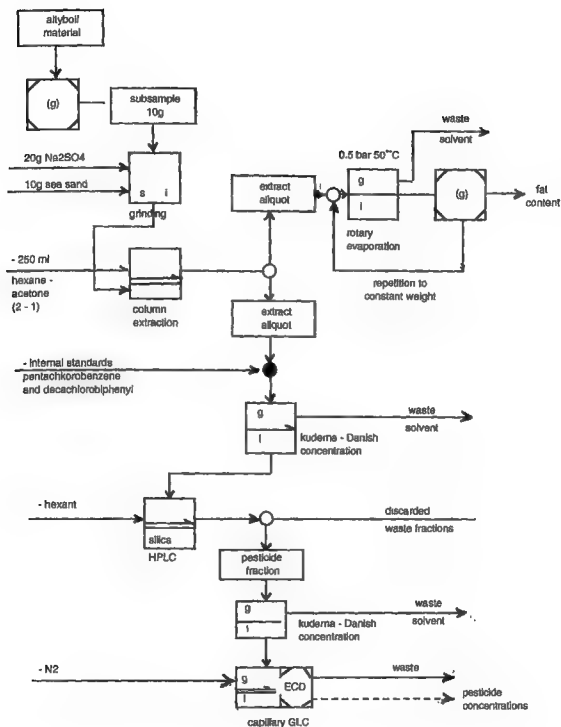


Fig. 2. Example of a procedure description with details for laboratory work : Analysis of lipophilic organochlorine pesticides in fatty biological material.

تحليل المبيدات الكلورية العضوية المحبة للدهون في المواد الحيوية .

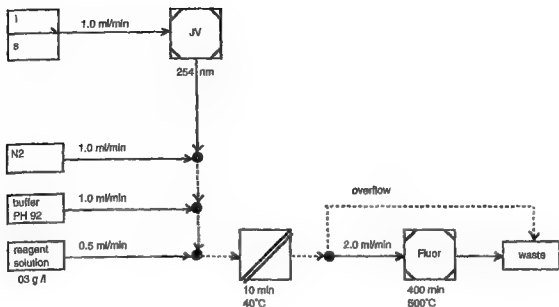


Fig. 4. Example of a flow diagram for automated methods :
Post-column reaction of anilines with fluorescamine for HPLC.
(Dashed line : air-segmented flow)

مثال توضيحي للطرق الآلية

تفاعل ما بعد العمود للأنيلاز مع الفلورسكامين لجهاز الكروماتوجرافي فائق المقدرة
(الخط المنقط المتقطع يمثل إنسياب حلقات الهواء)

الفصل الحادى عشر

طرق الكشف عن المبيدات بالوسائل الاسبكتروفوتومترية

- * المقدمة والنظرية (الاساس النظرى) .
- * التعريفات والمصطلحات الخاصة بالاسبكتروفوتومتري .
- * قوانين التقدير الكمى اللونى للمبيدات .
 - ١ - قانون بوخر ولامبرت .
 - ٢ - قانون بير .
- * العينات والتقديرات القياسية .
- * اساسيات الطرق اللونية .
- * اسباب استخدام الطرق اللونية والأشعة فوق البنفسجية .
- * الاستخلاص والتنقية .
 - ١ - ملاحظات عامة .
 - ٢ - اعتبارات خاصة للتحليل بالأشعة فوق البنفسجية .
- * طرق تجهيز البيانات والمنحنيات القياسية .
- * اصطلاحات خاصة باجهزة القياس اللونية .
- * امثلة للاجهزة المستخدمة فى التقدير اللونى .
 - ١ - جهاز قياس الالوان المرئية .
 - ٢ - جهاز ايفيلين .
- ٣ - جهاز اسبكتروفوتومتر بوش - لومب سبكترونيك ٢٠
- ٤ - جهاز بكمان دى يوسبكتروفوتومتر .
- * القياس اللونى بالأشعة تحت الحمراء الاسبكتروفوتومترية .

طرق الكشف عن المبيدات بالوسائل الاسبكتروفوتومترية

« الطيف ضوئية » Spectrophotometric

* المقدمة والنظرية (الاساس النظرى) :

لأسباب عديدة تغطى طرق التحليل التى تستخدم الوسائل الطيف ضوئية كلا من المجالات الخاصة بالأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet والضوء المرئى Visible للطيف . والقواعد التى تحكم هذين المجالين متماثلة تقريبا كما ان التعريفات الخاصة بهما تصلح لها معا . والاختلافات الحقيقية بينهما تتمثل فى قياس اللون المرئى فى مقابل امتصاص الأشعة فوق بنفسجية بسبب تركيب التردد Resonance . ببساطة يمكن القول ان اساس الطرق الكيميائية اللونية للتحليل تتضمن معاملة المادة فى المحلول بجوهر كشاف يعمل على تكوين لون يرتبط امتصاصه بتركيز المادة المقطرة . عادة ما تكون العلاقة بين الامتصاص الضوئى Optical absorbance وتركيز المادة خطية . ان امتصاص الضوء فى المنطقة فوق بنفسجية للطيف يتحكم فيها نفس اعتبارات امتصاص الضوء المرئى . ان التركيز الخاص بالتقدير فى الأشعة فوق البنفسجية يقل كثيرا عنه فى حالة الضوء المرئى . كمية اللون للعينة مجال التحليل يقاس بعدة وسائل مثل اجهزة قياس الألوان . يتطلب التحليل الحالى الكشف عن المخلفات تقدير كمية ضعيفة للغاية مما يستلزم حساسية شديدة وعالية للأجهزة ولا يتحقق هذا الا فى نطاق الضوء غير المرئى بالأشعة فوق البنفسجية ويستخدم الاصطلاح قياس الطيف الضوئى Spectrophotometry للتعبير عن هذا النوع من القياس تمييزا له عن التحليل الضوئى العادى Photometry الذى يعتمد على قياس كثافة انتقال الضوء من خلال الطيف .

الضوء عبارة عن اشعاع مغناطيسى يحوى اطوال موجات مختلفة او سيل من الفوتونات ذات الطاقة المختلفة ويستخدم الشعاع الكهرومغناطيسى فى التحليل الطيف الضوئى « ميكروفوتومتري » عند اطوال الموجات التالية مقاسة بالنانومتر أو الانجستروم على النحو التالى :

١٠ - ٢٢٠ نانومتر مجال الأشعة فوق البنفسجية .

٢٢٠ - ٣٨٠ « مجال الأشعة القريبة من فوق البنفسجية

٤٠٠ - ٧٠٠ « مجال الأشعة المرئية

للبحاث * Herman F. Beckman بمعمل بحوث التوكسيكولوجى ومخلفات المبيدات -

جامعة كاليفورنيا - داهف - كاليفورنيا .

و * Robert B. Bruce شركة روينز - ريشمون - فرجينيا .

و * D. MAC Dougall مؤسسة كيماجرو - كانساس سيتى - ميسورى - الولايات

المتحدة الامريكية .

من جهة اخرى معنى استخدام خلية ضوئية فى الجهاز ثم تتحول الاستجابة من الخلية الضوئية الى بعض الاشارات التى يمكن قياسها . التحليلات التى تستخدم الاشعة فوق البنفسجية يجب ان تكون طيف ضوئية بسبب طبيعة الطاقة .

يمكن تمثيل الطيف الممتص بواسطة مادة معينة عن طريق توقيع ورسم علاقة بين الامتصاص وطول الموجة . التغير السريع فى الامتصاص مع التغير فى طول الموجة يوجد منطقة امتصاص قصوى تسمى منطقة الامتصاص المتخصصة أو الاختيارية Detective or specific absorption . طول الموجة الذى يمد بالامتصاص خلال الكثافة القصوى يسمى اقصى امتصاص Maximum absorption اما ادنى امتصاص minimum Absorbance يمثل طول الموجة التى يحدث عندها اقل امتصاص . فى حالة المادة التى يحدث فيها امتصاص ذات قيمة تعلق وتنخفض بسرعة يقال عن الطيف المسجل ذو التركيب الدقيق Fine structure . من احسن الامثلة على التركيب الدقيق طيف ابخرة البنزين .

* قوانين التقدير الكمي اللوني للمبيدات :

قانون بوخرو لامبرت Boucuer and Lambert :

لا يعتمد نسبة الاشعاع أو الضوء الذى يمتص بواسطة وسط شفاف على شدة الضوء الواقع عندما تظل نوعية الاشعاع دون تغيير وكل طبقة متتابعة من الوسط تمتص جزء مساوى من الضوء المار من خلاله . هذه الحالة يعبر عنها بالمعادلة :

$$(١) \dots I = I_0 1^{-ad}$$

I = شدة الضوء المار

I_0 = شدة الضوء الحادث

a = معامل امتصاص الوسط

d = سمك طبقة الامتصاص بالستيمتر

يمكن التعبير عن هذه العلاقة بالمعادلة الآتية :

$$I_a$$

$$(٢) \dots \text{Log} \left(\frac{I_a}{I} \right) = ad$$

واذا كتبت المعادلة (٢) مع اللوغاريتم الاساسى (١٠)

$$I_a$$

$$(٣) \dots \text{Loe} \left(\frac{I_a}{I} \right) = kd$$

والمعادلة (٣) تعبر عن معامل الامتصاص Extinction Coefficient

$$\infty = 2.303 k$$

قانون بير Beer's Law :

يعتبر امتداد لقانون لامبرت ومفاده ان الامتصاص لا يتناسب مع عدد جزيئات مادة الامتصاص الموجودة في مسار الضوء ولذلك يدخل عامل التركيز في المعادلة (٣) بحيث يعبر عنه بالمعادلة :

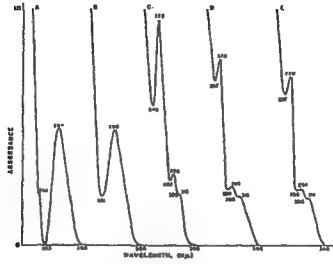
$$\text{Log} \left(\frac{I_0}{I} \right) = kcd \quad (٤)$$

حيث $c =$ التركيز وعادة يعبر عنه بالمول في اللتر . عندما يكون التركيز ١ مول في اللتر وطول المسار ١ سم يطلق على K معامل الامتصاص الجزيئي ويكتب E أو ϵ ولقد استخدم الاصطلاح $k, \text{ cm}^1\%$ بواسطة العديد من البحوث خاصة عندما يكون الوزن الجزيئي للمركب غير معروف للحصول على قيمة الامتصاص . وقد استخدم هذا الاصطلاح ايضا مع العديد من المركبات المعروفة حيث يعطى اساس للمقارنة . استخدام الاصطلاح يعطى قياس سريع لحساسية طريقة التحليل . عند محاولة الربط بين قيمة الامتصاص لطريقة ١ سم في محلول ١ % لمركب معين مع مركب آخر قيس بنفس الاسلوب يمكن الحكم على الحساسية النسبية للطريقة . اذا كان الوزن الجزيئي للمركب تحت الاختبار معروف يمكن تعريف وتقدير معامل الامتصاص الجزيئي بالمعادلة التالية :

$$E 1\% \times \frac{\text{Mol. wt}}{\text{icm} \times 10} = k \quad (٥)$$

القيمة المدونة تصلح مع طول الموجة التي تم عندها القياس ولا تصلح لأية اطوال موجية

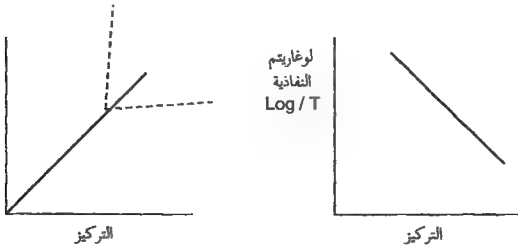
اخرى . الامتصاص يمثل لوغاريتم I_0 / I وهو يساوى (I / T) والنفاذية (T) تساوى I_0 / I ويعبر عنها بالنسبة المئوية $T \times 100$ والشكل (٢) يمثل منحنيات امتصاص الروتينون والمركبات المرتبطة به . المنحنيات توضح التغير في الامتصاص مع التغير في طول الموجة ومواضع الامتصاص الاقصى والادنى . تركيز المركبات الموجودة في الشكل ١٠ ميكروجرام / مليلتر ومسار الضوء ١ سم للحصول على هذه القياسات . يمكن تقدير معامل الامتصاص عند طول موجي من معادلة (٤) مع اقصى امتصاص .



شكل (٢) : منحنيات توضح تأثير التغير في طول الموجة على قيم الإمتصاص (جميع المحاليل ١٠ ميكروجرام/ملييلتر في الإيثانول)

A = رولينون
B = ديفينيلروينون ٢ = توكسيكارول
D = ديفينولين
E = تيفرومسين

وتسأل متى يخطئ قانون بير ؟ .. الاجابة تتمثل في ان الخطأ يحدث اذا حدث تأين-Ion ization أو تفكك dissociation أو تجمع association أو حدثت تغيرات في طبقة المذاب عند تغير التركيز وذلك يؤدي إلى الحصول على علاقة خط مستقيم بين الكثافة الضوئية والتركيز او بين النفاذية والتركيز .



* المعينات والتقدير القياسية Standards of Reference :

يجب ان تؤخذ سلسلة من التركيزات للمركب محل التحليل وتقدر بنفس الطريقة وتؤخذ قيم الامتصاص واللون كأساس لعمل منحنيات قياسية يمكن استخدامها لتعريف وتحديد التركيزات الغير معلومة من نفس المركب .

اساسيات الطرق اللونية Colorimetric والاشعة فوق البنفسجية Ultraviolet :

يجب ان تذاب عينة التحليل في مذيب نقي خالى من اى مادة تكون لها المقدرة على امتصاص الضوء على نفس طول الموجة الخاصة بالمركب تحت القياس . هذا المطلب يعتبر اساسيا لدقة الطرق الاسبيكتروفوتومترية . يجب الا يحتوى المحلول على مواد متداخلة قد تتفاعل مع الجوهر الكشاف الذى يكون اللون عند او بالقرب من طول موجة امتصاص المادة محل التحليل . ولنضرب مثلا يتمثل فى تحليل مييد البارثيون من خلال امتصاصه فى منطقة الاشعة فوق البنفسجية اذا كان المحلول النهائى محل التحليل به اية مركبات ذات تركيب متماثل فان قيمة الامتصاص المتحصل عليها لا تكون ممثلة تمثيلا حقيقيا لكمية البارثيون . فى هذا الوضع تجرى خطوة تنظيف للعينة قبل القياس النهائى فى جهاز الاسبيكتروفوتومتر ومثال ذلك الطرق الكروماتوجرافية . والطريقة يجب ان تزيل وتفصل اى مييدات اخرى من المحلول تحتوى على تركيب بنزيتويد او اى مادة نباتية من المستخلص تمتص فى نطاق الاشعة فوق البنفسجية على ٢٨٠ نانوميتر .

* اسباب استخدام الطرق اللونية والاشعة فوق البنفسجية :

Reasons for colorimetric and ultraviolet procedures

هناك حاجة مستمرة لتطوير طرق التحليل الاسبيكتروفوتومترية جنباً الى جنب وبنفس القدر من الاهمية لتطوير الطرق اللونية المرئية وتلك فى نطاق الاشعة فوق البنفسجية . وليكن معلوما ان الحساسية من اهم العوامل فى تقدير صلاحية الطريقة . العديد من الطرق اللونية تستطيع الكشف عن كميات فى حدود ١٠ ميكروجرام فى التحليلات الروتينية واقل من ذلك فى التحليلات الدقيقة . طرق الكشف التى تعتمد على الاشعة فوق البنفسجية اكثر حساسية بمقدار عشرة امثال او اكثر تبعا لطول موجة الامتصاص . المركبات ذات الامتصاص الاقصى بالقرب من اقل تدرج موجى يمكن تقديرها بشكل اكثر حساسية من تلك المركبات التى تقع بالقرب من الضوء المرئى اذا وجدت ملوثات فى محلول التقدير تتداخل مع التقدير تسبب مشاكل فى الامتصاص مع زيادة الحساسية . يمكن زيادة الحساسية بزيادة مسار الضوء الفعال خلال المحلول . الخلايا ذات المسار الضوئى (١٠ سم) متاحة حاليا وهى لا تتطلب زيادة مناظرة فى حجم العينة . يمكن زيادة الحساسية بتركيز العينة لحجم صغير مما ادى الى ايجاد خلية جديدة ١٠٠ ميكروليتر تعطى ١ سم مسار ضوئى .

* متطلبات اخذ القياسات Sampling requirements :

طريقة اخذ العينات وتقسيمها وتخزينها وتجهيزها تتميز باسلوب معين تبعا لطريقة التحليل

حيث ان الطريقة اللونية والاسبكتروفوتومترية تختلف عن الطرق الاخرى خاصة فى مجال الاستخلاص كما ان الطرق الطيف ضوئية تتطلب خطوة اكثر فى التنظيف والتقية وكذلك اخذ الحجم المناسب من العينة .

* الاستخلاص والتقية Extraction and cleanup

١ - ملاحظات عامة General remarks :

من المعلوم ان طريقة التحليل الخاصة تصمم على اساس مبيد معين ومحصول معين واية تغيرات تتطلب تحوير فى الطريقة الاصلية ، ومع هذا يمكن القول ان طرق الاستخلاص تجرى بشكل روتينى ولا جدال فيها ، اما طرق التقية تتطلب دائماً جديد او تحوير عما هو منشور وى تهاون او تجاهل لى خطوة بشكل غير مدروس او محسوب قد يؤدى الى قلة أو خطأ التحليل . مازالت مقولة Zweig وزملاؤه عن امكانية استخدام جهاز الكروماتوجرافى الغازى فى فصل المبيد قبل التقدير النهائى صالحة حتى وقتنا هذا وبعد مرور اكثر من ثلاثين عاما . ومن امثلة نجاحات الكروماتوجرافى الغازى تنظيف مستخلصات البطاطس قبل تقدير مركب حامض نفعالين اسيتيك اسيد وتنظيف مستخلصات فول الصويا قبل تقدير استر داي كلور امينو بنزويك اسيد وتنظيف مستخلص الكمشرى قبل تقدير مبيد الثيودان بالاشعة تحت الحمراء .

هناك طرق تنظيف اخرى تلائم مخاليط بعض المبيدات وهناك الكثير من الطرق الغير صالحة . لقد لاقى اسلوب عمود الكروماتوجرافى عناية واهتمام كبيرين واثبت نجاحات بدرجات متفاوتة ومن احسن الاعمدة التى ثبتت نجاحها عمود الفلوروسيل لفصل المبيدات الحشرية . يجب تجديد مادة الادمصاص بعد عدد من العمليات بسبب انخفاض الكفاءة مع تكرار التنظيف . لا يصلح هذا العمود لجميع المبيدات او جميع المستخلصات . استخدم عمود الفحم المنشط بنجاح فى فصل الديلدرين والـ د د ت والهيتاكلور والثيودان والهيتاكلور ايبوكسيد على المحاصيل المختلفة مثل التفاح والكمشرى والتوت والبرسيم ويشترط مع هذا العمود استخدام البنزين كمذيب مع الاحتفاظ بالنسبة بين العينة النباتية والمذيب ثابتة . التوزيع الجزئى بين سائلين نجحت لحد كبير فى فصل الدهون من المبيدات الحشرية حيث يستخدم مذيبان غير قابلين للامتزاج فى قمع الفصل او استخدام الكروماتوجرافى .

٢ - اعتبارات خاصة للتحليل الاشعة فوق البنفسجية (UV) :

التقديرات التى تعتمد على الاشعة فوق البنفسجية تتطلب تنظيف عالى ومتميز للعينات بما يضمن عدم وجود اية شوائب تمتص الضوء فى منطقة الطيف الخاصة بالمبيد . يجب اختيار المذيب المناسب الذى يسمح بالمرور الكامل للضوء .. والجدول التالى يوضح الموجه الخاصة فوق

جدول (١) : المذيبات المناسبة للتحليلات الاسبكتروفوتومترية .

المذيب	نطاق الاشعة فوق البنفسجية
اسيتون	٣٣٠
اسيتونتريل	٢١٠
بنزين	٢٨٠
داى فينيل امين (برومفورم)	٣٦٠
كحول البيوتانيل	٢١٠
رابع كلوريد الكربون	٢٦٥
كلوروفورم	٢٤٥
سيكلوهكسان	٢١٠
٢، ١ - داى كلوروايثان	٢٣٥
داى كلورميثان	٢٣٥
ن . ن - داى ميثيل فورماميد	٢٧٥
ايثيل اثير	٢١٠
ميثانول	٢١٠
ميثيل سيكلوهكسان	٢١٠
ميثيل فورمات	٢٦٠
نيروميثان	٢٨٠
كحول ايزوبروبيل	٢١٠
بيريدين	٣٠٥
تتراكلوروايثيلين	٢٩٠
٢ ، ٢ - ٤ ترى ميثيل بنتان	٢١٠

الفوق بنفسجية لكل مذيب ومنها يتضح ان افضل المذيبات ملائمة لهذا النوع من التحليل هو الاسيتونتريل وكحول البيوتيل والسيكلوهكسان والاثيل اثير والميثانول وهى تنفيذ مع معظم المبيدات . كذلك يجب ان يكون المذيب الذى يستخدم فى الاستخلاص مختاراً بعناية بحيث يكون قادراً على فصل المبيد من المواد الموجودة معه كما يجب الا يتداخل مع التحليل النهائى فى نظامى الاشعة فوق البنفسجية .

* هذه الاطوال الموجبة تمثل الموجة التى يكون امتصاص طبقة ١ سم يساوى الوحدة .

* تفاعلات الالوان Color reactions :

اجريت محاولات كثيرة لتحديد المجموعا الفعالة التى يمكن ان تستخدم فى التحليلات اللونية للمبيدات وقد تحققت نجاحات كثيرة فى هذا الخصوص ومثال ذلك مجموعة الامين العطرية . التفاعل العام يتمثل فى اجراء تفاعلات الأزو الثابتة Azotize للأمين العطرية التى ترتبط بالمادة الملونة .

ان تفاعل الانيلين مع نثريت الصوديوم فى الوسط الحامضى يعطى بنزين ديازونيوم كلوريد الذى يرتبط مع ن (١ - نافثيل) ايثيلين داي امين ليكون مركب ملون فى المحلول وهو غالبا لون وردي الى قرنفلى يمتص على طول موجة ٥٤٠ ميكرون . هذا التفاعل يصلح مع العديد من المبيدات الحشرية ومبيدات الحشائش والمواد الاضافية للأعلاف . ولقد تم تطوير التفاعل ليلائم تحليل العديد من المركبات المحتوية على مجموعة النيترو حيث تختزل إلى مجموعة الامين ثم يجرى التحليل .

من التفاعلات العامة تترتة حلقة البنزين كما فى الـ د د ت والعديد من المركبات المرتبطة به . اذا كانت الحلقة بها اكثر من مجموعتان نيترو او اكثر يمكن ظهور تفاعل لوني . من المعروف مثلا ان مركبات الميتا - داي نيترو تعطى الوان عندما تذاب فى الاستون وتعامل بالقلوى وهذا ما يعرف بتفاعل Janovsky . ولقد استخدم هذا التفاعل بنجاح مع العلائق والمواد الاضافية والمبيدات وعلى نفس المنوال فان المركبات التى عليها مجموعة احلائية للنيترو على حلقة البنزين تعطى لون اصفر فى الوسط القلوى .

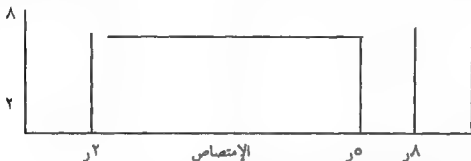
يمكن إستغلال مجموعة الايدروكسيل على حلقة البنزين فى التفاعلات اللونية بشرط عدم احلال الوضع بارا بالنسبة لحلقة البنزين او يحتل بمجموعة متحركة مثل الهالوجين او الكربوكسيل او الهيدروكسيل او الميثوكسيل او حمض السفلونيك . يتضمن التفاعل تكثيف الحلقة مع ٤ - امينو أنثيبيرين . ان احلال الوضع بارا بمجاميع الكيل - ازيل - نيتروبنزين - نيتروزو او الدهيد توقف التفاعل .

* العلاقة بين طول الموجة والكثافة الضوئية وكذلك العلاقة بين طول الموجة والنفاذية :

يمكن تمثيل مجال الامتصاص للمادة محل الاختيار وذلك برسم العلاقة بين طول الموجة والكثافة الضوئية Optical density (o) فعندما يحدث تغير سريع فى الامتصاص مع التغير فى طول الموجة مؤديا الى ظهور اقصى امتصاص يطلق عليه كما سبق القول الامتصاص النوعى Spe-cific absorption ويطلق على طول الموجة بطول موجة اقصى امتصاص Maximum absorp-tion .. ونكرر مرة اخرى ان طول الموجة التى يحدث عندها اقصى امتصاص هى التى يتم اختيارها لتقاس عندها كمية المادة الممتصة للضوء باستخدام جهاز الامبيكتروفوتوميتر . كما يلاحظ ان المرشح filter الذى يستخدم عن مقياس كمية المادة الممتصة للضوء فى جهاز قياس الالوان يعطى حزمة من اطوال الموجات بين ٣٠ - ٦٠ ميكرون .

نكرر التساؤل مرة أخرى عن السمك الأمثل أو المناسب للمادة المختصة محل القياس بالطرق اللونية ؟

لقد اتضح كما هو مبين في الرسم التالي ان احسن النتائج امكن الحصول عليها في حالة السمك الأمثل في مدى الكثافة الضوئية O.P. من ٠,٢ - ٠,٦٥ ، ومن ثم يجب ضبط تركيز المادة أو سمك طبقة المادة المختصة على هذا الأساس .



* اعتبارات متعلقة باللون المتكون في التقديرات اللونية :

ليست العبرة بالحصول على لون سواء مباشرة أو بعد اجراء تفاعل كيميائي مع المبيد أو محويره أو من جراء اضافة مادة ملونة ولكن الاهم توافر عدد من الشروط في اللون المتكون والا كانت الطريقة اللونية غير صالحة ، ولقد شاهدت بنفسى احد الزملاء يختبر جميع المواد الملونة الموجودة في المعمل بشكل عشوائي للحصول على طريقة لونية لبعض المبيدات وكان هذا خطأ كبير حيث لا بد من الاثام بكل المعلومات الخاصة بالتركيب الكيميائي والمواصفات الطبيعية والكيميائية واسس التفاعلات الكيميائية والطبيعية قبل البدء في هذا العمل . ومن اهم شروط اللون المتكون (١) ان يكون ثابتا لمدة من ١٥ - ٣٠ دقيقة على الاقل بصرف النظر عن التركيزات ، (٢) ان يمكن الحصول على اللون كلما اجرى التفاعل وبنفس الاستجابة Reproducible ، (٣) ان يكون اللون متدرج مع التركيز وان يكون حساس لأية تغيرات بسيطة مع التركيز . وهناك العديد من العوامل التي تؤثر على ثبات اللون وتكرار حدوثه .. نذكرها فيما يلي :

- تأثير زيادة تركيز المادة محل التقدير والتحليل .
- تركيز الجواهر الكاشفة وما اذا كانت طازجة او مخزنة .
- تأثير الحموضة في الوسط وعلاقتها باللون .
- الوقت اللازم لتكوين اللون حتى يكون اللون ثابت .
- خطوات تكوين اللون وتتابع المراحل والتفاعلات .
- دور المذيب وطبيعته .
- دور حرارة الوسط والتفاعل اللوني .
- طرق التعريض والطرق الكيميائية التي تستخدم لاستبعاد التداخل .

*** طرق تجهيز البيانات والمنحنيات القياسية :**

١ - رسم العلاقة الخطية بين النفاذية (T) فى المائة على المحور الرأسى اللوغاريتمى مع التركيز على المحور الاقصى العادى ، ترسم العلاقة على ورق نصف لوغاريتمى .

٢ - رسم العلاقة بين لوغاريتم النفاذية على المحور الرأسى مع التركيز على المحور الاقصى (يتم الرسم على ورق عادى) .

٣ - رسم العلاقة بين الكثافة الضوئية (O.D.) على المحور الرأسى مع التركيز على المحور الاقصى (يتم الرسم على ورق عادى) .

٤ - يمكن رسم العلاقة حيايا باستخدام قانون الميل حيث $k = \frac{D}{C}$ وتوضع قيم C K

ويؤخذ المتوسط ، والتركيز يساوى $C = \frac{D}{K}$ حيث $C =$ التركيز ، $D =$ الكثافة اللونية .

*** اصطلاحات خاصة باجهزة القياس اللونية Instrumentation :**

١ - اجهزة قياس الالوان المرئية visual وهى تعنى الاجهزة التى تقيس كمية المادة الماصة للضوء بالمقارنة بالالوان القياسية ويجب ان يؤخذ فى الاعتبار احتمالات حدوث اخطاء .

٢ - اجهزة قياس الالوان من خلال الخلايا الضوء كهربية وفيها تستخدم خلية ضوئية ومرشح ضوئى للحصول على حزمة ضوئية من اطوال الموجات (٣٠ - ٦٠ ميكرون) Photoelectric Photometer .

٣ - اجهزة الاميكتروفوتومتر وفيها تستخدم خلية ضوئية monochromator لعزل حزمة ضيقة جدا من الضوء .

٤ - اجهزة القياس الضوئى photometer وهو يقيس كثافة الضوء النافذ على امتداد الطيف وهى بذلك تختلف عن اجهزة القياس الاسبيكتروفوتومترية .

٥ - اجهزة قياس اللهب الضوئى "Flame photometer" .

مصدر الضوء فى هذه الطريقة العينة نفسها حيث يوجد لهب بدلا من مصدر الضوء (الللمبة) حيث توضع المادة المراد قياسها فى اللهب فتعطي لون معين بينما فى الطريقة الاسبيكتروفوتومترية تقوم العينة بامتصاص الضوء ولا تكون مصدرا له .

: Instruments اظلة للأجهزة المستخدمة فى التقدير اللونى

من المؤسف ان العديد من البحات فى معامل تخليق المبيدات وغيرها يشيعون مقدرة فائقة وعلم وافر عن الاجهزة . وقد يكون ذلك صحيحا ولكنى اود توضيح ان متخصصى الاجهزة هم من درسوا هذا العلم والفن من البداية وتلقوا دورات متعددة بصفة مستمرة على كيفية استخدام

وصيانة الاجهزة وما اساعنى قول البعض « انا بتاع التحليل ، انا بتاع الـ HPLC ... انا الوحيد اللى افهم فى تحليل المبيدات .. الخ » ذلك من المزايدات والمهاترات .. ولا خلاف بيننا ان الخبرة فى التحليل هى المطلب الاساسى وتتبعها التدقيق والاحساس بالعمل الموكل للقائم بالتحليل . واهيب فى هذا المقام بالزملاء فى مجال تحليل المبيدات الا يحملوا انفسهم ما هو خارج عن نطاق تخصصاتهم وفى معامل الكشف عن المخلفات يفضل بل من الضرورى ان نضطلع بمسئولية التحليل اناس مدربون جيداً بصرف النظر عن مؤهلاتهم العلمية ولا غشاضة فى ان نتعلم ونكتسب الخبرة على استعمال الاجهزة ، اما الصيانة فلها متخصصيها وفنييها .. ان ادعاء المعرفة يحجب عن المدعى فرص كثيرة للحصول عليها وليس عيبا الجهل بشئ ولكن الاكثر عيبا والمعيب ادعاء الالم بالاجهزة واتمنى من الله سبحانه وتعالى ان يجيى اليوم الذى يعمل الباحث معا فى تعاون وتكامل المعامل . وفى هذا المقام اشير الى اهم الاجهزة المستخدمة فى التحليل اللوني :

(١) جهاز قياس الالوان المرئية Visual colorimeter :

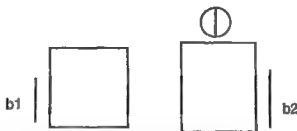
ومنه جهاز Debosque colorimeter وقد سبق تعريفه وهى تقيس كمية المادة الماصة للضوء بالمقارنة بالوان ذات تركيزات متباعدة .. وهى تعتمد على المعادلة :

$$D = Kcb$$

$$D = Kc_1b_1 = Kc_2b_2$$

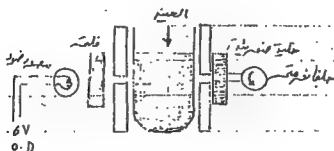
$$c_1b_1 = c_2b_2$$

$$\frac{c_1}{c_2} = \frac{b_2}{b_1}$$



(٢) جهاز ايفيلين Evelyn colorimeter :

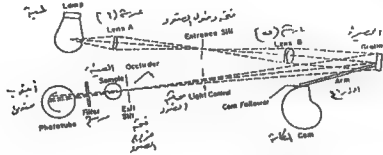
وقد سبق التعريف حيث يقيس كمية الضوء المار أو الممتص بواسطة العينة من خلال خلية ضوئية ومرشح ضوئى ومصدر للضوء .



(٣) جهاز إسبكتروفوتومتر بوش - لومب إسبكترونيك ٢٠ :

Bausch and Lomb spectranic - 20

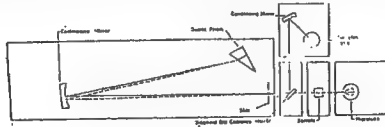
استعملت ظاهرة انكسار الضوء المتدرج Diffraction grating monochromator في عمل هذا الجهاز حيث يقوم المنشور الزجاجي أو نوع من الحصار بفصل الضوء الى اطوال موجات مختلفة ويحتوى الجهاز على اميليفير وكشاف الكتروني والجلفانومتر ويمكن القياس على اطوال موجات من ٣٧٥ - ٦٥٠ ميكرون ويمكن اضافة مرشح اخر وتغير الخلية الضوئية لزيادة المدى حتى ٩٥٠ ميكرون وعرض الحزمة الضوئية ٢٠ ميكرون . الجهاز يستخدم فى قياس الالوان فى المجال المرئى والغير مرئى .



شكل (٣) رسم توضيحي لجهاز إسبكتروفوتومتر بوش - لومب إسبكترونيك ٢٠

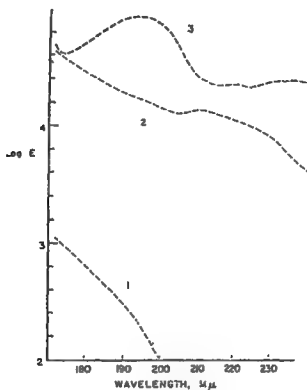
(٤) جهاز بكمان دى يو إسبكتروفوتومتر Beckman Du :

يستخدم هذا الجهاز فى التقدير اللونى المادى وبالأشعة فوق البنفسجية اى المرئى والغير مرئى وهو عملى جدا وينتشر فى العديد من المعامل وحاليا توجد اجهزة يابانية والمانيية والمجلىزية على مستوى عالى جدا . مصدر الضوء فى هذا الجهاز لمبة من التنجستين او الايدروجين تركب الضوء الصادر منها على مرآة مجهر ثم يمر منها على مرآة الدخول التى تعكس الضوء الى فتحة دخول الضوء ثم الى مرآة مجمعة اخرى ينعكس منها الضوء الى منشور كولتز حيث يحدث له انكسار . وتقوم خلفية المنشور اللامعة بعكس الضوء المتكسر خلال المنشور . يمكن اختيار طول الموجة المناسب باستخدام وحدة اختيار Selector حيث يقوم بضبط وضع المنشور ثم يمر الضوء الى العينة ومنها الى الخلية الضوئية مسببا تيار كهربي يتم تكبيره بواسطة اميليفير وتسجيله على مقياس لذلك .

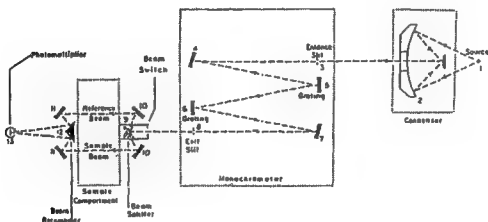


شكل (٤) رسم تخطيطي لجهاز إسبكتروفوتومتر بكمان دى يو

والرسم التالي يوضح طبقة الأشعة فوق البنفسجية لمبيدات اللندين والألدرين والديلدرين .



شكل (٦) : طيف يعيد الأشعة فوق البنفسجية لمبيدات اللندين ١ والألدرين ٢ والدرن ٣



شكل (٧) : رسم تخطيطي لجهاز يوش لومب طراز ٥٠٥ يوضح طريقة التشغيل

* القياس اللوني بالأشعة تحت الحمراء الاسبيكتروفوتومترية Infrared spectrophotometric :

* تستخدم الأشعة تحت الحمراء للكشف والتقدير الوصفي والكمي للمبيدات وغيرها من الكيمائيات بطريقة مشابهة لما يحدث في الطرق اللونية في الضوء المرئي أو في نطاق الأشعة فوق البنفسجية . نود التأكيد على ان معظم استخدامات اجهزة القياس بالأشعة تحت الحمراء تتركز في تحليل مستحضرات المبيدات formulations ولا تستخدم الا نادرا في الكشف عن مخلفات المبيدات Residues بسبب قلة الحساسية وعدم توفر الاجهزة ذات المواصفات الخاصة لهذا الهدف . يمكن استخدام الأشعة تحت الحمراء لتحديد نوع المبيد وكميته بطريقة طبيعية دون اللجوء للتحليل الكيميائي .

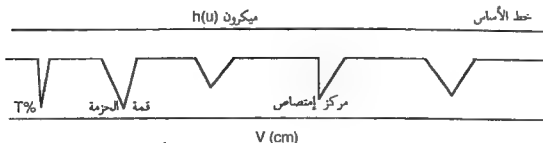
* يغطي حزام الأشعة تحت الحمراء الأطوال الموجية من ٠,٧٥ - ٣٠٠ ميكرون . وما يعنىها منها لقياس المبيدات الموجات من ٢ وحتى ١٥ ميكرون علما بان منطقة ٣٠ ميكرون تؤخذ في الاعتبار . يعبر عن مواضع حزم الإمتصاص بطول الموجة بالميكرون أو بالعدد الموجي بمقلوب الوحدة سنتيمتر cm-1 علما بان العدد الموجي هو مقلوب طول الموجة . يرجع ظهور حزم الإمتصاص في منطقة الأشعة تحت الحمراء بسبب حدوث اهتزازات في الجزيئات وهذا يماثل ما يحدث لكرات صغيرة مرتبطة بسوستة (الكرات تمثل الأنوية والسوستة تمثل الأنوية) ومن ثم يحدث أو يتكون عدد هائل من الاهتزازات تختلف في الزاوية وكتلة النواة وقدرة الروابط وغيرها من الصفات المميزة ولذلك يمكن تمييز هذه الاهتزازات الأساسية وغير الأساسية .

* تظهر المركبات العضوية من ٥ - ٣٠ حزمة امتصاص وليكون موضع الحزمة من خصائص الجزيء حيث يمكن تمييزه عن غيرها من الجزيئات والتعرف على تركيبه أو نواتج تحوله من الموضع . أما تركيز أو كمية المركب يمكن معرفتها بواسطة تحديد كثافة الحزمة حيث تزيد الكثافة كلما زاد التركيز أى ينطبق عليها قانون (بيير - لامبرت) كما في الطرق الإسبيكتروفوتومترية التى تعتمد على الأشعة فوق البنفسجية أو الضوء المرئي .

* يمكن تتبع القراءات المسجلة على وحدة القياس المسماه « سيكتروجراف » بقراءة النسبة المئوية لنفاذية الأشعة تحت الحمراء عند أطوال موجات مختلفة بعد مرورها على العينة . وجهاز الكشف حساس للحرارة . ان طاقة بعض الأطوال الموجية تمتص في شكل حزم امتصاص بسبب تداخلها مع جزيئات المركب بينما لا تمتص بقية أطوال موجات الأشعة تحت الحمراء . تتم قراءة هذه النتائج المسجلة على الاسبيكتروجراف وقراءتها بتمييز مواضع حزم الإمتصاص الأساسية وريبطها بالمجموعات الفعالة للمركب وتهمل باقى حزم الامتصاص الثانوية الناشئة عن حدوث تداخلات معقدة للأشعة مع الجزيئات .

* يتم التقدير الكمي للمركب محل التقدير من خلال شدة امتصاص الأشعة تحت الحمراء لحزمة معينة مميزة وحادة للمركب حيث تقدر النفاذية عند قمة الحزمة وتكرر نفس الخطوات والقياسات لتركيزات مختلفة ثم يرسم المنحنى القياسى من العلاقة بين لوغاريتم النفاذية والتركيز على ورق رسم بيانى عادى . والرسم التالى يوضح غط البداية حيث لا يحدث عنده امتصاص

للضوء ثم تظهر حزم الامتصاص تبعاً لنوع وتركيب ومقدرة المركب على الإمتصاص ، وكما قلنا تمثل قمة الحزمة التركيز والمادة .



* للإجابة على التساؤل الخاص بكيفية عمل جهاز الاسبيكتروفوتومتر الذى يعمل بالأشعة تحت الحمراء نقول ان الجهاز يتركب من مصدر للطاقة او الأشعة تحت الحمراء وغالباً ما يكون عبارة عن سلك ساخن من النيكل كروم او البلاتين ينبعث من وهج ثم تستقبل الأشعة تحت الحمراء على زوج من المرايا بحيث يمر شعاع الى العينة محل القياس وشعاع اخر الى المادة القياسية Reference . يحتوى الجهاز على نظام دوار من المرايا يضمن السماح للشعاعين الخارجين من العينة محل القياس والاخرى القياسية بالمرور المتعاقب فى نفس المساحة وتمر الأشعة المتعاقبة على مرشح للأشعة تحت الحمراء بما يسمح بمرور منطقة محددة من مجال الأشعة تحت الحمراء ثم تستقبل الأشعة المتعاقبة على منشور من كلوريد الصوديوم او حاجز لفصل اطوال الموجات المختلفة تبعاً لطاقتها المتميزة . بعد ذلك يتركز الشعاعان المتعاقبان للعينة والمادة القياسية على جهاز حساس للحرارة يمكن من خلاله مقارنة طاقة كلا الشعاعين المتعاقبين ففى حالة عدم اختلاف الشعاعين المتقابلين عن بعضهم يقوم الجهاز بتسجيل ١٠٠ % نفاذية . اما اذا حدث اختلاف بينهما نتيجة امتصاص العينة للطاقة عند طول موجة معينة يتم تسجيل نسبة الاختلاف فى الطاقة بين الشعاعين فى صورة حزم امتصاص للطاقة على الاسبيكتروجراف . وكما سبق القول تقاس حزم الامتصاص بالميكرون وهى تمثل طول الموجة أو يحدد العدد الموجى بالستيمتر وتدل هذه المواضع على وجود نوع معين من الجسيمات الفعالة فى تركيب المركب الجزيئى كما فى الامثلة الآتية :

المجموعة الفعالة	العدد الموجى سم - ١	المجموعة الفعالة	العدد الموجى سم - ١
الكان	٢٩٥٠ - ١٤٥٠	كيتون	١٧٥٠ - ١٦٥٠
الكين	٣٠٠٠ - ١٦٠٠	أمين	٣٥٠٠ - ٣٣٠٠
اروماتيك	٣٠٥٠ - ١٦٠٠	فوسفات	١٢٥٥
كحول	٣٤٠٠ - ٣١٠٠	فو - ١ - الكيل	١١٦٠
احماض	٣٣٠٠ - ٢٩٠٠	اريل كلوريد	٦٠٠
استر	١٧٥٠ - ١٧٠٠	فو - ١ - ميثيل	١٢٥٠
الدهيد	٣٠٠٠ - ٢٨٠٠		

* بالنسبة للخلايا التي توضع بها العينة القياسية أو المرجع توجد منها أنواع عديدة بعضها يصلح للعينات الغازية واخرى للسائلة أو الصلبة والنوعين الآخرين هما الأكثر شيوعا . وقد تكون الخلية ثابتة أو حرة بحيث يمكن وضعها وإزالتها والأخيرة تصلح للعينات الكبيرة والسوائل الغير المتطايرة أما الخلايا الثانية تستخدم في المواد سهلة التطاير وهي مكلفة وذات حجم مختلف تناسب العينات المختلفة من المليلتر وحتى الميكروليتر . وتصنع الخلايا من مواد منفذة للأشعة تحت الحمراء مثل خلايا كلوريد الصوديوم الذي ينفذ أطوال الموجات من ٢ - ١٥ ميكرون أو بروميد اليوتاسيوم التي تلائم الموجات من ٢ - ٢٥ ميكرون وبروميد السيزيوم لتلائم ٢ - ٥٥ ميكرون .

تختصر العينة السائلة مذابة في ثاني كبريتور الكربون أو رابع كلوريد الكربون لضمان عدم تداخل حزم امتصاص المذيب النقي مع حزم الامتصاص للعينة . اما في حالة العينات الصلبة يخلط مسحوقها مع مسحوق بروميد اليوتاسيوم ويضغط المخلوط تحت ضغط عالي يصل الى مئات مثل الضغط الجوي لفترة عدة لوانى ثم تفصل قرص بروميد اليوتاسيوم المحتوى على العينة ويوضع في خلية من بروميد اليوتاسيوم .

* من اهم المشاكل التي تعترض انتشار استخدام الاشعة تحت الحمراء في الكشف عن متبقيات المبيدات ضرورة اجراء عمليات تنظيف للعينات عالية الجودة بما يمكن من التغلب على تداخل حزم الامتصاص للشوائب مع حزم الامتصاص الخاصة بالمبيد او نواتج التحول الكيمياءى . لتحقيق التنظيف الجيد يمكن الاستمانة بطرق الفصل بالورق الكروماتوجرافى او كروماتوجرافى الألواح الزجاجية المغطاة وبعد الفصل يستخلص المركب بالمذيب المناسب ويحقن في جهاز الكروماتوجرافى الغازى ويجمع من العمود الكروماتوجرافى ويجهز للتحليل بالأشعة تحت الحمراء حتى يمكن مقارنة النتائج بالعينة القياسية عالية النقاوة . اذا حدثت تحولات وتغيرات في المركب الاصلى محل التقدير يمكن تحديد ما حدث بناء على خبرة ودراية القائم بالتحليل .

* لن اعطيل على القارئ بتفصيلات كثيرة منعا للملل لأننى قصدت من هذا الكتاب ان اجعل كل مهتم بتحليلات المبيدات والكشف عن المخلفات ان يتلوق هذا الفن .. وكما سبق ان اشرت الى أننا جميعا نهمل من خبرات من سبقونا او من يعملون معنا دون حرج او عيب . من اخطر الامور على القائم بالتحليل سواء للمبيدات أو الملوثات البيئية القروى وادعاء المعرفة وعليه ان يلقى نظرة للتطور الهائل الذى حدث فى اجهزة وطرق القياس حتى يثق بما حارلنا ان نبه اليه .

الفصل الثانى عشر

- الفصل الكروماتوجرافى بالالواح ذات الطبقة الرقيقة .

- * مقدمة
- * اساسيات الطريقة .
- * الاجهزة .
- * طريقة وخطوات التقدير .
- ١ - تغطية الالواح الزجاجية .
- ٢ - وضع العينات على الالواح .
- ٣ - استعمال الالواح .
- ٤ - تجهيز العينات .
- * تنظيف العينات .
- * انواع الوسط الصلب والسائل .
- طرق التطبيق والكشف عن مجموعات المبيدات المختلفة .
- ١ - الكشف عن المبيدات الكلورينية .
- ٢ - الكشف عن المبيدات الفوسفورية العضوية باستخدام نترات الفضة .
- ٣ - الكشف عن المركبات المحتوية على الكبريت او استرات حمض الفوسفوريك .
- ٤ - الكشف عن الروتينون .
- ٥ - الكشف عن البيبيرثينات والمنشط بيروزيل بيروكسيد .
- ٦ - طرق جديدة مع الالواح الزجاجية المغطاة .
- (أ) طريقة الالواح .
- (ب) طريقة الالواح والانزيم الغير مباشرة .
- (ج) الالواح المغطاة ذات البعدين .
- (د) الالواح ذات الوسط المعكوس .
- (هـ) تسجيل الكروماتوجرام .
- (و) التحديد الكمى للكروماتوجرام .
- ٧ - الاختبارات التأكيذية .
- ٨ - العوامل التى تؤثر على كفاءة الفصل بالـ TLC .
- * قائمة المراجع

الفصل الكروماتوجرافي بالالواح ذات الطبقة الرقيقة

Thin layer chromatography (TLC)

* مقدمة :

يطلق على هذه الطريقة « التقدير نصف أو شبه الكمي » - Semiquantitative determination - وهي تستخدم أساسا كطريقة تأكيدية لما أسفر عنه التقدير الكروماتوجرافي الغازي كما يمكن الاعتماد عليها لتقدير المبيدات الكلورينية وغيرها في حالة عدم توفر أو تعطل جهاز الكروماتوجرافي الغازي . وقد ثبت كفاءة هذه الطريقة وسهولتها وسرعة إجرائها ونمائل نتائج التحليلات مع تكرار الكشف عن نفس المبيد وكذلك تعطي نتائج توصف بانها شبه كمية مقبولة لحد ما . ولكي نتق وتنفهم امكانيات هذه الطريقة نقرراتها يمكن الاعتماد عليها للكشف عن كميات في حدود ٢٥ نانوجرام من المبيدات الكلورينية الدرين - ديلدرين - اندرين - هيتاكلور - هيتاكلورايبوكسيد - تي دي اى - دى اى - دى اى - دى اى - دى اى .

* بساطة الطريقة تتمثل في انها تحتاج فقط الى طبقة رقيقة من مادة ادمصاص ودعامة صلبة مثل السليكا جيل ولوح زجاج على التوالي . في بعض المركبات الكيميائية تكون حدود التقدير في حدود النانوجرام واحيانا البيكوجرام . والتقدير يكون في غاية الدقة اذا احسن اختيار المواد والمذيبات ويمكن الاعتماد على النتائج المتحصل عليها . يمكن استخدام الطريقة لتحليل العديد من المركبات باستخدام مجموعة مختلفة من المذيبات او مخاليطها « كوسط متحرك - mobile phase » ومواد ادمصاص مختلفة كوسط ثابت stationary phase والتحكم في سمك طبقة الوسط الثابت ونظام الكشف وظروف الفصل بما يتيح التقدير النوعي والكمي وكذلك تجهيز العينات اى التنقية وفصل المادة الفعالة من الشوائب . هذه الطريقة سريعة جدا لدرجة انه يمكن الحصول على النتائج خلال دقائق معدودة . وبسبب التكلفة البسيطة تستخدم هذه الطريقة في العديد من المعامل .

* استخدمت طريقة كروماتوجرافي الالواح TLC في العديد من المجالات وبنجاح متقطع النظير كما في الكيمياء البيولوجية والعضوية وغير عضوية وغيرها . كذلك تستخدم في تنقية الكيميائيةات قبل خطوات التعرف والتقدير الكمي . وسنحاول في هذا المقام ان نركز على امكانيات هذه الطريقة في الكشف عن المبيدات . وتضم قائمة المراجع ارقام ٢ ، ٣ ، ٤ ، ٥ ، ٦ ، ٧ ، ٨ ، ٩ وهي تختص باستخدام الـ TLC في الكشف عن المبيدات وهي مقسمة الى اقسام حسب مجاميع المبيدات الكاربامات والفوسفورية والكلورينية والفطرية وغيرها . وقد اشار Mendo-za في المرجعين ١٠ ، ١١ لتقدير المبيدات من خلال دمج طريقة انزيم الاسيتايل كولين استريز مع الكروماتوجرافي TLC .

* اساسيات الطريقة : Basic principles

اساس الطريقة يعتمد على ادمصاص المركب محل التقدير على طبقة رقيقة من مادة الادمصاص او الوسط الثابت وذوبانه في نظام من المذيبات او ما يعرف بالوسط المتحرك . يسمح الوسط المتحرك بحركة المركب من نقطة البداية حتى نقطة النهاية السابق تحديدها في التجارب الاولى . نقطة البداية هي موضع تنقيط المركب وخط النهاية هو نهاية حركة المذيب (شكل - ١) . النسبة بين المسافة التي تحركها المركب الى مسافة حركة المذيب (النهاية) تعرف بالمعيار RF (معدل الانسياب Rate of flow) . تتأثر حركة المذيب والمذيب بالضغط البخارى والحرارة فى كائنة الكروماتوجرافى ومن ثم تكون قيمة RF تحت الظروف المتحكم فيها من الصفات الطبيعية للمركب .



شكل (١) : لوح TLC مع خط البداية والنهاية .

يعبر عن الـ RF بقيمة نسبية (Rst) Relative RF value أى النسبة بين المسافة التى تحركها المركب الى المركب القياسى وهذه تعطى الصلاحية للمقارنة بين قيم عند اوقات مختلفة وتحت ظروف كروماتوجرافية مختلفة عندما تكون مادة الادمصاص والمركب القياسى دون تغيير عند كل تقدير . بوجه عام يفترض ان حركة المركب ترتبط مباشرة بالمركب القياسى تحت الظروف المحددة وهذا الافتراض يجب ان يؤخذ بحذر بسبب احتمال اختلاف ذوبان وادمصاص المركب محل الاختيار ونظيره القياسى تحت نفس الظروف .

* الاجهزة : Instrumentation

تم حصر الاجهزة المتاحة لفصل وتعريف المركبات باسلوب عام بواسطة الباحث Hurd tubise وآخرون (١٩٧٣) وكذلك Lott وآخرون (١٩٧٩) من حيث الفصل والكشف والتقدير الكمي للمركبات ، كما نوقشت اساسيات الاجهزة بواسطة Stahl (١٩٦٥) .. والاجهزة المطلوبة تشتمل على الآتى :

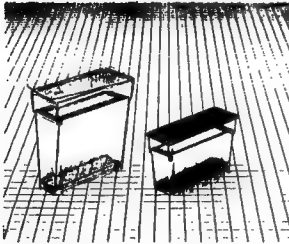
١ - ناشر الطبقة الرقيقة من مادة الادمصاص واللوحه وهى تقوم بنشر وتوزيع متجانس بمعينة مادة الادمصاص (الوسط الثابت) وهى مزودة بميكروميتر للتحكم فى سمك الطبقة واللوحه تثبت الواح الزجاج قبل وضع العينة عليها .

٢ - الوسط الثابت Stationary phase يعمل على شكل طبقة رقيقة من السليكا جيل او السيلولوز او الالومينا ... الخ والتي يجب ان تكون لها مقدرة على ادمصاص المركبات الكيميائية عندما يتحرك المذيب خلال الطبقة .

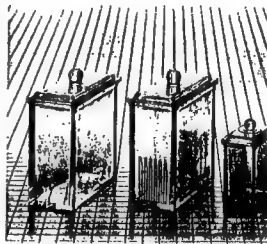
٣ - المواد الصلبة المعصدة Solid supports الواح زجاجية او الالومنيوم او رقائق من البلاستيك بشرط ان تكون مقاومة للمذيبات العضوية تستخدم كمواد معصدة .

٤ - حجرة الكروماتوجرافى (الشكل ٢ أ ، ٢ ب) وهى تصنع من زجاج شفاف وتستخدم للإحتفاظ بالوسط المتحرك (المذيب) .

٥ - محقن العينة والمسطرة Sample applicator and template تشمل حقنة دقيقة وانابيب شعرية معايرة وهى تستخدم لتنقيط العينة على اللوح المجهز بمادة الادمصاص عند خط البداية والمسطرة من البلاستيك وتعاير لتحديد نقطة البداية والنهاية كما تستخدم فى قياس مساحة البقعة والمسافة التى تحركها المركب .

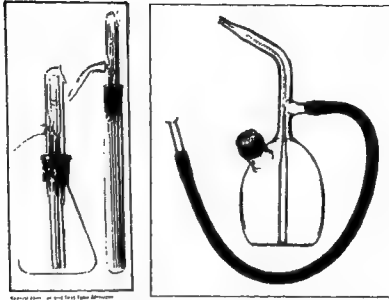


Separating Chambers



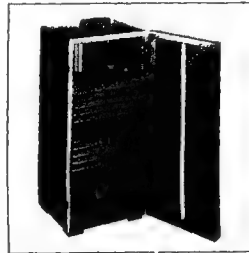
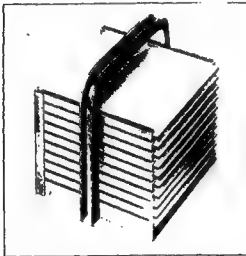
Standard, Dilution and New Separating Chambers

شكل (٢) : نوعان من حجرات الكروماتوجرافى ذات الألواح

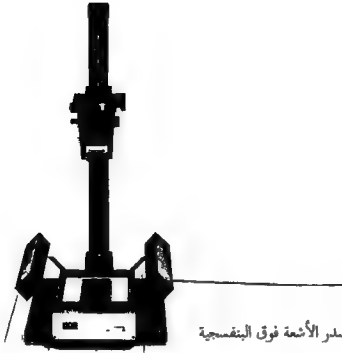


شكل (٣) : رشاشات زجاجية لرش المحاليل الملونة على ألواح الكروماتوجرافى

- ٦ - وحدة لتجهيز كروماتوجرافى الألواح ذات الطبقة الرقيقة .
- ٧ - رشاشة لرش المواد المتفاعلة لتنشيط أو الكشف عن المركبات على اللوح الزجاجى (شكل - ٣) .
- ٨ - ماسك الألواح يمكن استخدام أى مادة بحيث لا تؤدي إلى تلوث طبقة الامصاص ويفضل الزجاج وإى مادة غير قابلة للتآكل .
- ٩ - حامل الألواح وصندوق التخزين المحكم (شكل - ٤) . ويفضل أن يصنع الحامل من الصلب الغير قابل للصدأ كما يجب أن يعطى الصندوق بالصلب الغير قابل للصدأ أيضاً لمنع التلوث .
- ١٠ - صندوق ومصدر الأشعة فوق البنفسجية UV (شكل - ٥) وهو يستخدم لإظهار البقع .



شكل (٤) : وعاء التخزين (على اليسار) والصندوق المحكم المغلق (على اليمين)



شكل (٥) : رسم توضيحي لمصدر الأشعة فوق البنفسجية

الجواهر الكشفية المطلوبة تتوقف على المركبات المطلوب تحليلها .. ومع هذا يمكن الإشارة الى اهم المواد المستخدمة في :

- ١ - الوسط الثابت : سليكا جيل - أكسيد الألومنيوم - الفلوروسيل - السيليلوز ..
- ٢ - الوسط المتحرك : المذيبات العضوية - الماء - حمض الخليك .
- ٣ - المواد الملونة : نترات الفضة - اندوفينيل اسيتات - استرات النافثيل - الفاست بلو - اندوفثاللات .

* طريقة وخطوات التقدير Techniques :

لن اخوض بالتفصيل في هذا المجال حيث ان التدريب على هذه الطريقة ميسر وسهل وليس فيه اى صعوبة وهذه مسؤولية الشركات المصنعة والموردة كما ان النشرات المصاحبة للاجهزة توضح كل شئ بالتفصيل ولا غشاضة في ان يقوم الباحث بتعليم نفسه وسوف يخطئ وأخذ وقت حتى تصل حساسية التنازل الى الحد المطلوب وكلما أجرى تجارب أكثر ازدادت خبرته .. وتشتمل خطوات تقدير المواد الكيميائية بأسلوب TLC على المراحل والخطوات الآتية (الصور تعبر عن نفسها) ..

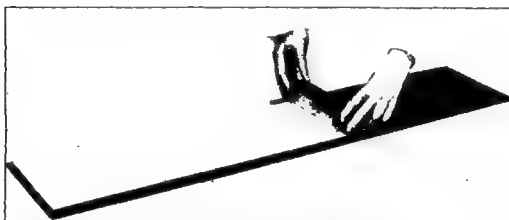
* ١ - تغطية الألواح الزجاجية Coating :

يتطلب هذا العمل تدريب وخبرة في خلط ونشر العجينة ويجب قبل عمل العجينة التنظيف الجيد للألواح وتخفيفها جيدا . وتوضع الألواح على الحامل بشرط ان تكون ذات سمك واحد ويضبط الميكروميتر للحصول على سمك واحد ومتجانس من مادة الادمصاص . تجهز العجينة بخلط مادة الادمصاص مع الماء ونسبة معينة محددة . تسكب العجينة وتفتح فتحة الدخول وتنتشر فوق

الالواح ثم تزال وتترك حتى تجف . اذا لم يكن الناشر متوفرا يمكن نشر العجينة باستخدام شريحة زجاجية رقيقة وهناك جهاز بسيط كما في الشكل (٧) . بعد ان تجف الالواح توضع في فرن على درجة ١١٠ م لمدة ٥,٥ ساعة على الاقل ويمكن ان تخزن الالواح المعاملة في صندوق محكم يحتوى على مجيئات من السليكا جيل (الشكل - ٤) .

* ٢ - وضع العينات على الالواح Application of samples :

قبل تقطيع العينات توضح وتحدد ابعاد اللوح ومادة الادمصاص ويزال الجيل الزائد عند الحواف بابعاد ٢ - ٤ ملليمتر ثم يحدد خط البداية والنهاية (شكل - ١) . ومن المفضل



Coating of TLC-plates with TLC-Spreading Device and TLC-Spreading Template

شكل (٦) : رسم يوضح كيفية تغطية الألواح بالمادة الإدمصاصية

عمل خط عبر النهاية حتى يمكن سريان الوسط المتحرك ووصوله للنهاية . توضع العينة على خط البداية باستخدام الحقن الدقيقة أو الابنوبة الشعرية الدقيقة وتستخدم المسطرة الشفافة لتوضيح وضبط المسافة بين النقط . الحقنة يجب ان يكون لها شفة بزاوية ١٨٠ م . النقطة تكون صغيرة ما امكن وتترك لتجف قبل وضع العينة الثانية منعا للانتشار والتداخل .

* ٣ - استعمال الالواح Development of the plates :

يجب تحقيق الاتزان في حجرة الكروماتوجرافى قبل الاستخدام . توضع الالواح في التنك وتغطى في الحال (شكل - ٢) ، يمكن العمل على عدة الواح في نفس الوقت بوضعها في الحامل المصنوع من الصلب الغير قابل للصدأ . يجب ان يلامس المذيب الجيل تحت نقطة البداية - يزال اللوح بمجرد وصول المذيب للخط قبل النهاية . يسمح للمذيب بالبخار قبل استخدام المواد الملونة او المنشطة او محلول الانزيم .

* 4 - تجهيز العينات Preparation of samples :

يجب ان تستخلص المبيدات من العينات النباتية والحيوانية أو الأرض أو الماء أو الهواء في المذيبات العضوية . العديد من مستخلصات العينات تتطلب عمليات تنظيف قبل اجراء الفصل بالكروماتوجرافى ذو الالواح المغطاة TLC . يوضح الشكل (٧) رسم تخطيطى لتجهيز العينات قبل الفصل مع طريقة الالواح والتشيط الانزيمى EI .. وهذه الخريطة تصلح لجميع طرق الـ TLC . يجب تركيز العينات وتقليل الحجم لاقل ضرر ممكن عن طريق التبخير بالتفريغ Vacuum او تيار هادئ من الهواء أو النتروجين . لسنا فى حاجة لتأكيد ضرورة ان تكون الاجهزة خاصة الزجاجية فى منتهى النظافة كما تكون الغازات نقية جدا قبل الاستخدام لتفادى تلوث العينات .

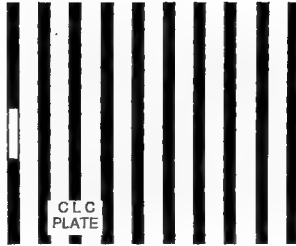


شكل (٧) : رسم تخطيطى يوضح تجهيز العينات قبل الفصل بالـ TLC مع الانزيم .

: تنظيف العينات Clean-up of samples :

يجب تنظيف بعض العينات قبل اجراء التقدير بالـ TLC من خلال اعمدة الكروماتوجرافى او TLC او ترسيب الزيوت او الدهون بالتبريد او الفصل الجزئى او التقطير المتكرر او ترسيب البروتين بالطرد المركزى او الترشيح او الادمصاص على الفحم المنشط وهكذا . فى الفصل بالاعمدة الكروماتوجرافية توجد مواد ادمصاصية وذات القدرة التبادلية الايونية .

يمكن استخدام الالواح الزجاجية المغطاة بطبقة سميكة (اكثر من ٥, ٠ ملليمتر) فى تنقية العينات وكذلك يمكن استخدام طبقات وقنوات الكروماتوجرافى (شكل - ٩) حيث توجد مجاري فى اللوح بما يحقق نظام العمود المفتوح لذلك توضع طبقة سميكة جدا من الجيل فى التجاريف . يتوقف استخدام هذه الطريقة على نوع العينة محل التحليل كما يجب التأكد من نظافة المذيبات ومواد الادمصاص منعا للتلوث .



شكل (أ) : لوح الكروماتوجرافي ذو القنوات

والجداول التالية توضح قيم RF مضروبا في ١٠٠ للمبيدات التي اختبرت مع نظم مختلفة من المذيبات الخاصة بالوسط المتحرك وإذا أجريت عملية الفصل على الألواح تحت نفس الظروف لحصلنا على نفس القيم تقريبا .

*** أنواع الوسط الصلب والسائل Stationary and mobile phases :**

هناك أنواع عديدة من الجيل تصلح للكروماتوجرافي ذو الألواح المغطاة خاصة السليكا جيل كما يمكن استخدام أكسيد الألومنيوم أو السيليلوز أو الفلوروسيل كوسط ثابت . استخدم الفلوروسيل مع ٩٠ مبيد . جدول (١) يعطي قيم RF للمبيدات مع الفلوروسيل وخمسة نظم من المذيبات أما جدولي (٢ ، ٣) توضح RF للكاربامات على الكيسلجيل مع مذيبات مختلفة . وجدولي (٤ ، ٥) توضح RF للمبيدات الكلورينية والفوسفورية مع نظم ثابتة ومتحركة مختلفة .

جدول (١) : قيم RF (× ١٠٠) للمبيدات والريجات المرتبطة بها على الأرواح المخلطة بالفلوروسيل مع نظم مختلفة من المذيبات العضوية .

Sample No.	Compound	Hexane	Diethyl ether : hexane (6 : 94, v/v)	Diethyl ether : hexane (15 : 85, v/v)	Toluene	Acetone : toluene (1 : 9, v/v)
1	Hexachlorobenzene	70	76	80	90	90
2	Aldrin	61	71	77	90	90
3	Chlordane	52, 45, 37, 28, 20	69, 48, 22	75, 64, 57	90	90
4	DDE	51	69	80	87	88
5	Isobenzan	48	71	78	90	90
6	1-Chloro-2, 2-bis (4-chlorophenyl) ethylene	48	69	78	88	89
7	Quintozene	43	68	82	87	89
8	DDT	40	58	67	87	88
9	α - BHC	35	61	68	85	86
10	γ - BHC	26	51	61	86	87
11	TDE	24	46	63	83	86
12	Trifluralin	19	74	76	88	88
13	Pentachlorophenyl acetate	19	55	65	80	87
14	Bentfluralin	12	63	74	83	90
15	Bromophos-ethyl	13	57	64	83	84
16	Dichlofentition	7	57	65	78	89

Sample No.	Compound	Hexane	Diethyl ether : hexane (6 : 94, v/v)	Diethyl ether : hexane (15 : 85, v/v)	Toluene	Acetone : toluene (1 : 9, v/v)
17	Dursban	3	55	65	77	89
18	Fenoprop butyl	3	50	60	74	87
19	4, 4' - Dichlorobenzophenone	2	47	58	63	87
20	Endrin	9	39	57	74	85
21	Dieldrin	7	39	53	75	85
22	Ethion	2	33	50	79	89
23	Dicofol	4	(50) 32	(60) 48	63	87
24	Fenoprop methyl	4	34	48	62	84
25	2, 4, 5-T n-butyl	2	31	50	57	86
26	Dinocap	0	30	50	61	88
27	2,4,5-T isobutyl	0	32	50	52	87
28	2,4,5-T isopropyl	0	32	50	53	87
29	Tetradifon	2	30	47	65	87
30	Bromoxynil octanoate	0	28	46	57	86
31	2,4,5-T n-propyl	0	27	45	49	87
32	Nitrofen	2	26	43	78	85
33	N,N-Dimethyl-p-phenylazooaniline	0	26	41	42	84
34	2,4,5-T ethyl	0	25	41	43	86
35	2,4-D sec-butyl	0	23	44	51	83
36	Parathion	4	23	38	51	85

Sample No.	Compound	Hexane	Diethyl ether : hexane (6 : 94, v/v)	Diethyl ether : hexane (15 : 85, v/v)	Toluene	Acetone : toluene (1 : 9, v/v)
37	2,4-D isobutyl	0	21	39	43	86
38	Dicloran	2	21	25	45	73
39	2,4-D n-butyl	0	20	37	47	84
40	2,4-Disopropyl	0	19	38	46	84
41	2,4,5-T methyl	1	18	33	43	82
42	2,4-D ethyl	0	17	31	43	82
43	Phenothiazine	1	16	28	65	75
44	2,4-Dichlorophenol	4	18	27	37	59
45	8-BHC	4	14	28	80	84
46	Diazinon	2	14	28	30	84
47	2,4-D methyl	0	13	21	32	79
48	2,4,5-T butoxyethyl	0	11	23	26	83
49	α -Naphthol	2	11	23	29	63
50	3,4-Dichloroaniline	4	7	13	42	84
51	Mercaptodimethyl	0	7	22	23	65
52	Dioxathion	3	8	17	32	86
53	Malathion	2	5	14	22	79
54	2,4-D butoxyethyl	0	4	13	14	84
55	Folpet	0	0	12	27	80
56	p-Phenyldiazaniline	0	4	10	24	68

Y 47

Sample No.	Compound	Hexane	Diethyl ether : hexane (6 : 94, v/v)	Diethyl ether : hexane (15 : 85, v/v)	Toluene	Acetone : toluene (1 : 9, v/v)
57	Trichlorophenol	2	3	4	13	86
58	Captan	0	0	6	13	70
59	Linuron	0	2	5	11	68
60	Dithianon	0	0	0	13	81
61	Imidan	0	0	3	10	73
62	Carbaryl	0	(11) 1	(24) 4	(30) 11	(64) 53
63	Ametryne	1	4	6	10	59
64	2,4-Dichlorophenoxyethanol	0	2	3	8	52
65	Propazine	0	0	5	6	60
66	Azinphos-ethyl	0	0	4	5	73
67	Azinphos-methyl	0	0	2	4	68
68	Atrazine	0	2	4	5	60
69	Thiram	0	2	5	8	45
70	Dazomet	0	0	1	8	45
71	Simazine	0	0	0	1	43
72	Cyolane	0	2	3	3	41
73	4-Nitrophenol	1	3	4	5	35
74	Crotoxyphos	0	0	0	0	41
75	Demeton-methyl	0	0	1	3	39
76	Diuron	0	0	0	0	41

Sample No.	Compound	Hexane	Diethyl ether : hexane (6 : 94, v/v)	Diethyl ether : hexane (15 : 85, v/v)	Toluene	Acetone : toluene (1 : 9, v/v)
77	Bromacil	0	0	0	0	41
78	Monuron	0	0	0	0	35
79	Fluometuron	0	0	2	3	33
80	1,1-Bis-(4-hydroxyphenyl)-2,2,2-trichloroethane	0	0	0	0	26
81	Methomyl	0	0	0	6	25
82	Fenuron	0	0	0	3	25
83	Haloxon	0	0	0	0	25
84	Courmaphos	0	0	5	6	14
85	Dimethoate	0	0	0	2	17
86	Thiabendazole	0	0	0	0	11
87	Warfarin	0	0	0	0	11
88	Trichlorfon	0	0	0	0	7
89	Pentachlorophenol	0	0	0	0	7
90	Amitrole	0	0	0	0	0

Source : From Hamilton and Simpson (16).

G-HR الكيسلجل على
 جدول (٢) : قيم RF (١٠٠ ×) لاحدى عشر سبيد كاربامات مع نظم مليات عضوية مختلفة على

Pesticide	1	2	3	3b	4	4b	5	6	7	8	9	9b	10	10b	11	12	13	14	15	16
Aldicarb (500)c	20	33	66	60	45	50	62	23	21	27	33	35	25	32	29	30	0	75	33	11
Banol (50)	33	38	77	72	65	57	89	40	35	39	46	47	39	40	40	32	3	79	45	33
Baygon (500)	27	40	76	63	50	53	77	28	30	32	35	33	38	35	27	25	1	76	35	11
Carbaryl (5)	24	38	75	63	43	57	77	28	29	28	35	27	25	27	32	24	1	75	35	25
Carbofuran (500)	26	39	71	61	49	43	80	29	20	27	37	38	31	33	31	24	2	70	33	8
Carbofuran 3-OH (500)	6	13	23	22	432	35	28	7	7	7	33	20	15	19	7	5	0	55	39	0
Metacil (500)	27	37	75	67	54	55	70d	28	28	33	39	40	30	37	33	25	2	70	33	7
Mesurul (50)	32	48	77	72	64	61	80	40	35	39	45	51	39	43	37	31	0	77	37	30
Mobam (5)	22	37	71	61	50	52	69d	26	25	28	35	37	27	33	32	21	3	76	33	23
Ortho 5353 (50)	37	53	80	77	68	65	89	44	39	41	51	53	40	47	40	33	5	78	43	33
Zectran (500)	35	48	79	77	66	61	86	50	37	40	46	47	40	47	39	33	5	77	43	27

a (1) 20% acetone in cyclohexane, (2) 20% acetone + 10% benzene in hexane, (3) 20% acetone in pentane, (4) 30% acetone in hexane, (5) 20% acetone + 10% benzene in pentane, (6) 20% acetone in hexane saturated with methanol, (7) 20% acetone with hexane, (8) 20% acetone in 1 part of hexane : 1 part of cyclohexane, (9) 30% acetone in cyclohexane, (10) 30% acetone in heptane, (11) 20% acetone in 1 part of pentane : 1 part of hexane, (12) 20% acetone in 1 part of hexane : 1 part of heptane, (13) cyclohexane, (14) ethanol, (15) 10% ethanol + 10% benzene + 20% acetone in heptane, (16) chloroform.

Figures in parentheses indicate the pesticide amounts (in ng) spotted.
 dInhibitor detected in the standard solution.

Source : From Mendoza and Shields (36).

جدول (۳) : قيم RF لاني عتر ميد کاربامات على انواع مختلفة من الجيل مع نظام طبقات عضوية مختلفة .

Pesticide	Types of layer ^a									
	Silical gel G		Silica gel D-5		Silica gel H		Silica AR TLC-7		Aluminum Oxide DS-5	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Aldicarb	43	14	38	8	43	17	-b	-	60	20
Banol	64	26	55	18	63	28	-	27	73	42
Baygon	57	22	42	14	49	22	47	23	63	20
Carbaryl ¹	46	18	33	12	51	22	52	26	57	20
Carbofuran	45	18	33	12	51	21	53	26	57	20
Carbofuran 3-OH	20	5	12	2	10	8	20	13	3	0
Matacil	45	18	33	12	51	21	47	21	57	22
Mesutrol	54	22	47	18	60	27	62	33	63	27
Mobam	45	14	33	9	51	20	47	26	52	16
Ortho 5353	65	25	61	19	68	32	60	35	73	30
Tranid	12	3	7	1	16	4	15	5	3	0
Zectran	64	24	61	19	71	30	60	39	73	30

^aSolvent system : A, 20% acetone + 10% benzene in pentane; B, 20% acetone in hexane.

b-- = area of the spot, not definite.

Source : From Mendoza and Shields (36)

جدول (٤) : قيم RF (١٠٠ ×) لبعض البليات الكلورية المعقوية والتركيزات المشاركة (مجم النيك ٧٨ × ٢٦ × ٢١ سم)

Pesticide	System number ^a and Rf Value									
	1 A	1 S	2 A	2 S	3 S	4 S	5 S	6 A/S		
Aldrin	95	70	82	67	64	69	58	98		
Alpha-BHC	87	34	63	52	28	43	---	69		
Gamma-BHC	78	21	55	46	18	37	---	58		
P, p'-DDE	95	65	78	65	57	62	74	98		
o, p'-DDT	89	50	73	59	46	58	50	90		
p, p'-DDT	89	42	69	57	39	54	52	91		
deHCl p,p'-TDE	93	53	75	49	53	62	67	98		
Dichlorobenzophenone	31	14	55	59	27	48	---	---		
Dieldrin	37	12	52	65	48	48	30	58		
Endosulfan A	65	17	64	58	35	52	---	---		
Endosulfan B	4	2	9	12	---	---	---	---		
Endrin	51	13	61	49	26	52	---	---		
Hepachlor	95	58	78	65	53	62	48	98		
Hepachlor epoxide	49	17	57	39	---	---	---	---		
Methoxychlor	---	---	---	---	10	36	28	---		
p, p'-TDE	71	25	57	52	26	46	67	77		

a(1) Hexane; (2) 94 + 5 + 1 petroleum ether (40 to 60°C) : liquid paraffin : dioxane; (3) 4 + 1 petroleum ether (40 to 60°C) : liquid paraffin; (4) 7 + 2 + 1 cyclohexane : liquid paraffin : dioxane; (5) 9 + 9 + 2 cyclohexane : benzene : liquid paraffin; and (6) 92 + 8 cyclohexane : silicone oil. A = alumina, S = silica gel, A/S = 1 + 1 A : S.

Source : Cited in Abbott and Thomson (3).

جدول (٥) قيم R_f ($100 \times$) لبعض المبيدات الفوسفورية العضوية (٤٠٠ دقيقة في كابتية $78 \times 76 \times 21$ سم)

Pesticide	System number ^a and value								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	S	S	S	K/S	K/S	K/A	K/A	K/A	K/A
Azinphosmethyl	5	14	24	0	27	0	3	58	0
Carbophenothion	52	66	80	45	96	36	39	92	27
Chlorfion	16	27	52	11	52	10	12	81	9
Dichlorvos	4	10	17	3	23	0	0	3	0
Dimethoate	2	4	7	0	2	0	0	12	0
Ethion	60	82	88	38	96	50	57	---	39
Fenchlorphos	40	60	74	16	90	15	17	90	13
Malathion	50	68	81	60	96	64	68	93	45
Parthion	12	29	45	0	57	0	2	81	0
Phenkapton	37	62	72	14	80	11	18	90	95
Phorate	54	71	84	43	95	43	38	90	30
Phosphamidon	60	75	84	33	96	39	44	92	32
Thiometon	22	44	65	2	0	0	0	78	0
	46	61	66	18	90	23	26	90	0

^a(1) 19 + 1 Hexane : acetone; (2) 9 + 1 hexane : acetone; (3) 6 + 1 hexane : acetone; (4) petroleum ether (40 to 60°C); d(5) 0 + 1 cyclohexane : acetone; (6) cyclohexane; (7) petroleum ether (40 to 60°C); (8) 9 + 1 cyclohexane : acetone; and (9) 20 + 1 hexane : liquid paraffin. S = silica gel, K/S = 1 + 1 Kieselgeluhr : silica gel, and K/A = 1 + 1 Kieselgeluhr : alumina.

Source : Cited in Abbott and Thomson (3).

* طرق التطبيق والكشف عن مجموعات المبيدات المختلفة :

* ١ - الكشف عن المبيدات الكلورينية :

يتطلب الكشف عن المبيدات الكلورينية تنظيف جيد للعينة قبل اجراء الفصل الكروماتوجرافي وتتوقف طريقة الفصل على نوع المبيد والعينات المحتوية عليها ، ومن المعروف ان المواد الموجودة في المستخلصات مثل الزيوت والصبغات تتداخل مع طرق التقدير مع نترات الفضة والكشف بالاشعة فوق البنفسجية . المواد المتداخلة قد تتفاعل مع نترات الفضة أو تحجب مقدرة المركبات على الكشف بالفلورسنت والطرق المستخدمة بسيطة وتتطلب خطوة واحدة للرش لاظهار البقع . يجب ان يدوم اللوح وان يكون ذا نوعية جيدة حتى يحفظ بالكروماتوجرام لفترة كافية ويحتفظ باللوح للتصوير او للرجوع المستقبلي عند ظهور اى مشكلة قانونية . يمكن اظهار البقع بمحلول نترات الفضة « محلول ميتشل المعدل » المكون من ١,٧ جم نترات فضة تذاب في ٢٠ مليلتر ماء ثم يضاف ١٠ مليلتر ٢ - فينوكسي ايثانول ثم تخفف الى ١٩٠ مليلتر بالاسيتون وقبل الرش يضاف ١ مليلتر من محلول ايدروكسيد الامونيوم المركز الى ١٩ مليلتر نترات فضة من المحلول القياسي ويحفظ بالمحلول في مكان مظلم في زجاجات الجواهر الكشافه . يمكن استخدام البرومين او الفلوريسين او ازرق البروموفينول بلو مع محلول نترات الفضة . كما يستخدم الرودامين Rhodamine وكذلك الاشعة فوق البنفسجية للكشف عن المبيدات الكلورينية .

* ٢ - الكشف عن المبيدات الفوسفورية العضوية باستخدام نترات الفضة :

استخدم الجواهر الكشاف نترات الفضة رشا مع البروموفينول بلو او الاستر الايثايل للترابر وموفينولفثالين للكشف عن المركبات الهالوجينية والفوسفورية العضوية كذلك . توضح الجداول (٦، ٧) مقارنة للفصل بين طريقة نترات الفضة وتثبيت الانزيم على الالواح الزجاجية المغطاة TLC . يتضح من الجدول ان طريقة التثبيت الانزيمي اكثر حساسية من نترات الفضة في الكشف عن المشتقات الاكسجينية محل التقدير والكشف .

* ٣ - الكشف عن المركبات المحتوية على الكبريت او استرات حمض الفوسفوريك :

يمكن استخدام محاليل ايود وبلائينات ، كلوروبلائينات ، ٦,٢ - داي برومو - ن - كلورو بارا - بنزوكوينون امين أو ن ، ٦,٢ - تراي كلورو - بارا - بنزوكوينون امين للكشف عن مركبات الثيوفوسفات والثيو كبرامات . يحضر الايودوبلائينات بخلط ٣ مليلتر من محلول كلوريد البلاينيوم ١٠ ٪ مع ٩٧ مليلتر ماء ثم يضاف ١٠٠ مليلتر ٦ ٪ يوديد بوتاسيوم ويرج ويخزن في الظلام .

* ٤ - الكشف عن الروتينون :

يمكن الكشف عن الروتينون على الالواح الزجاجية المغطاة باستخدام الجواهر الكشاف Dragendroff's reagent الذي يحضر من كبرونات البزموت (٦, ٢ جم) ويوديد الصوديوم (٠, ٧ جم) ويثلي المخلوط لمدة دقائق مع ٢٥ مليلتر من حامض الخليك الثلجي . بعد ١٢ ساعة

جدول (٦) : حدود الكشف عن ١٤ مبيد فوسفوري باستخدام الألواح الزجاجية والإنزيمات ونواتر الفضة والبروموفينول بلو

المبيد Pesticide	حدود التقدير تترات الفضة بروموفينول	Detection limit (ng) AgnO ₃ bromophenol ble	TLC-EI ^a
	بلو		
Azilinphosmethyl		100	n.d.
Azilinphosmethyl-oxon		100	0.001-0.025
Coumaphos		500	n.d.
Coumaphos-oxon		500	0.01-0.1
Malathion		100-200	n.d.
Malaoxon		100	2-10
Medthyl parathion		100	n.d.
Methyl paraoxon		100	0.5-2
Parathion		100-200	n.d.
Paraoxon		100	0.025-0.5
Ronnel		100	n.d.
Ronnoxon		500	0.025
Narlene		100	n.d.
Ruelene		100	0.1-0.25

^an.d. = not deterctable; p = s analogs were detected only after reaching with N-bromosuccinimide or bromine.

Source : From El-Refai and Hopkins (18).

جدول (٧) : حدود الكشف بالألواح والإنزيمات والطرق الكيميائية مع ٢٣ مبيد آفات

المبيد Pesticide	حدود التقديرات (نانوجرام)	
	الطرق الإنزيمية Enzymatic ^a method	الطرق الكيميائية Chemical ^b method
Promophos	8	200
Dichlorvos ^c	300	ND
Dimethoate	14	500
Methyl paraoxond	10	ND
Parathion	6	700
paraoxon ^c	5	ND
Disulfoton	40	70
Ethion	60	400
Azinphosmethyl	20	100
Malathion	800	500
Methyl Trithiuron	50	50
Phorate	600	100
Mevinphos ^c	100	ND
Ronnel	10	900
Diazinon	50	200
Aldicarb ^d	50	800
Azinphosethyl	7	100
Carbophenothion	10	400
Famphur	200	600
Dimethenthoate	100	100
Dursban	90	900
Abate	80	1,400

^aPesticides resolved on TLC plates (250-μg thick layer of alumina G (Merck) type E) were exposed to bromine vapor before enzymatic detection.

^bND = not detected with the tetrabromophenol-phthalein ethyl ester and silver nitrate spray solution.

^cOxygen analogs.

^dA carbamate.

Source : From Leoni and Puccetti (19).

يرشح المحلول للتخلص من بللورات خلات الصوديوم المترسبة ثم يؤخذ ٢٠ مليلتر من المحلول الراشح ويضاف إليه ٨ مليلتر من خلال الايثيل . عند الرش يخلط ١٠ مليلتر من المحلول السابق ويخلط مع حامض الخليك الثلجي (٢٥ مليلتر) مع خلات الايثيل (٦٠ مليلتر) . بعد الرش تظهر بقع من مركبات الالكالويد والمركبات الخالية من النيتروجين .

* ٥ - الكشف عن البير ثرينات والمنشط بيرونيل بيوتوكسيد :

يمكن استخدام محلول رش يحتوى على احماض الفوسفوريك والتانيك والخليك للكشف عن البير ثرينات حيث تعطى لون ودى وكذلك البيرونيل بيوتوكسيد التى تعطى بقع زرقاء . يحضر محلول الفوسفوموليبيديك - تانيك - اسيتيك يخلط ٣ مليلتر من حمض الفوسفوريك ٨٥٪ مع ١ مليلتر من حمض التانيك ٠,٣٣٪ فى حمض الخليك (وزن / حجم) مع ٢٦ مليلتر اسيتون . ويحضر هذا المحلول مباشرة قبل الاستخدام . وهناك جواهر كشافة اخرى ، ويحضر محلول الفوسفوموليبيديك أسيد من ١٠ جم حمض فوسفوموليبيديك فى ١٠٠ مليلتر من الايثانول قبل الاستخدام مباشرة .

* ٦ - طرق جديدة مع الالواح الزجاجية المغطاة :

(أ) طرق الالواح TLC مع النشاط الانزيمى EI :

يستخدم هذا التكنيك (TLC - EI) مع المركبات ذات النشاط فى تثبيط الانزيمات ومثال ذلك المبيدات الفوسفورية والكارباماتية . عادة تتحول المشتقات الكيرتية (فو = كب) للمبيدات الفوسفورية الى مشتقات اكسجينية (فو = أ) قبل الرش بالانزيم على اللوح الزجاجي لأن هذه المشتقات مثبطات قوية جدا للانزيم . وبعد التحويل تمرض الالواح للأشعة فوق البنفسجية أو البرومين . يزال البرومين الزائد قبل رش الالواح بمحلول الانزيم . يمكن استخدام جواهر كشافة اخرى لتحويل المركبات الى مثبطات قوية . يقوم الأشعة فوق البنفسجية بتنشيط معظم المركبات فو = وتحويلها وتحويلها الى فو = أ ولكنها تعمل على انهيار مبيدات الكابامات .

توجد مصادر عديدة للاسترازمات التى تصلح مع طريقة TLC - EI ومنها كبد الجاموس والخنازير والدواجن والقرود والفقران . يجب ان يكون الكبد طازجا لضمان عدم انهيار الانزيم . كذلك تعتبر بلازما الدم أو السيرم أو رؤوس النمل والذباب مصادر ممتازة للاسترازمات الحساسة للتثبيط بالمبيدات . وهناك التربين والفوسفاتيز متاحة تجاريا ، قبل الرش تخفف المستخلصات الانزيمية بمحلول ٠,٠٥ مولي ذات الحموضة ٨,٣ البارد . للحصول على النشاط المطلوب على لوح الزجاج . كما يجب اختبار نشاط المستخلص الانزيمى لتحديد درجة التخفيف المناسبة . يمكن تخزين مستخلص الكبد لأكثر من عام دون حدوث فقد مؤثر للنشاط الانزيمى وبعد ذلك يتوقع حدوث فقد كبير . أى رشاش يصلح ويشترط ألا يسيل محلول الرش من على الالواح ويترك لتجف تحت درجة حرارة الغرفة .

تستخدم المواد الملونة المختلفة لظهور البقع مثل ١ - نافثيل اسيتات ، اندوكسيل اسيتات ، اندوفينيل اسيتات ، حيث تذاب في الميثانول او الاسيتون او الايثانول . خلال دقائق قليلة تظهر بقع او مساحات تحدد اماكن المبيدات على خلفية ملونة . حيث ان المبيدات تثبط النشاط الانزيمى فى هذه البقع يقف التحلل المائى للمادة الملونة ومن ثم لا ينتج لون . اذا استخدم دليل الحموضة مثل البروموفينول بلو تظهر بقع زرقاء على خلفية صفراء أو خلفية عديمة اللون . تظهر البقع زرقاء طالما لم يحدث تحلل مائى للشق الحامضى من المادة الوسيطة . فى بعض الطرق يرتبط الوسيط الانزيمى مثل ١ - نافثول مع ملح الديازدينوم منتجا مركبا ازو ذات لون غامق . الاندوكسيل او اندوفينيل اسيتات من احسن المواد الوسيطة لتكنيك TLC-EI حيث انها لا تحتاج لأى مواد اخرى لتكوين اللون .

الالواح التى رشت بالاندوكسيل اسيتات يمكن رشها بالبرومين بمجرد الحصول على البقع وهذه الخطوة ضرورية لايقاف التفاعل الانزيمى . الجداول التالية توضح حساسية الطرق الانزيمية مع الواح الزجاج المغطاة فى الكشف عن المركبات .

جدول (A) : تخطيط الاستقرارات بالمبيدات مع المعاملة بالبروتين او بدونه وحيدو القشور على السليكا جمل HR Gr

Pesticide	No bromine (N, Br) or with bromine (Br)	Inhibition ^{b,c}					Detection limit with beef esterase (ng)
		Beef	Sheep	Pig	Monkey	Chicken	
Dichlorvos : 8	N.Br	+	+	+	+	+	2
	Br	+	+	+	+	+	2
Dimethoate : 10,000	N.Br	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,000
	Br	+	+	+	+	+	8,000
Dimethoxon : 10,000	N.Br	+	+	+	+	+	8,000
	Br	+	+	+	+	+	8,000
Demeton-S sulfone : 50	N.Br	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	10
	Br	+	+	+	+	n.d.	10
Carbaryl : 1	N.Br	n.d.	n.d.	+	T	n.d.	0.
	Br	+	+	+	T	+	0.
Ethion : 10	N.Br	+	+	+	+	+	1
	Br	+	+	+	+	+	1

Pesticide	No bromine (N, Br) or with bromine (Br)	Inhibition ^{b,c}					Detection limit with beef esterase (ng)
		Beef	Sheep	Pig	Monkey	Chicken	
Oxydemetonmethyl : 50	N,Br	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	---
	Br	+	+	+	+	n.d.	50
Demeton : 50	N,Br	n.d.	n.d.	+	+	n.d.	---
	Br	+	+	+	+	n.d.	20

^aFigure after each pesticide name was amount (ng) spotted on plates.

^b + = detectable; n.d. = not detectable ; T = detection with enzyme extracted with gris buffer, not with water; - = tested, 5-bromindoxyl acetate was used as substrate.

^cEsterases were extracted with 0.01 M tris buffer at pH 7.2 or with distilled water and centrifuged at 2000 to 3000 g.

(Source : From Mendoza et al. (37)

جدول (٩) : حدود التقدير الخمسة وعشرون مبيد فوسفوري باستخدام ثلاثة أنواع من الكولين استريز ChE .

pesticide	Amount detected ^a (ng)		
	Horse serum ChE	Bovine erythrocyte ChE	Eel ChE
Naled	1	1	10
Dichlorvos	5	30	40
Dimethoate	300	200	200
Dimethoxon	50	50	100
Methyl parathion	30	1	10
Parathion	1	1	1
Demeton-O	1,000	2,000	50
Trichlorfon	1,000	1,500	1,000
Coumaphos	1	20	10
Disulfoton	50	50	50
Ethion	1	100	100
Azinphosmethyl	1	1	1
Malathion	35	1	1
Phorate	5	50	30
Mevinphos	10	5	10
Ronnel	5	100	200
Diazinon	1	50	30
Carbophenothion	5	50	50
Phosphamidon	10	200	10
Pensulfothion	5	20	50
Dyfonate	50	10	20
EPN	5	10	5
Fenthion	100	500	300
Dioxathion	10	200	100
Famphur	20	50	100

^aPesticides resolved on silice gel G or GF; the enzyme substrate was indoxyl acetate.

Source : From Gardner (38).

جدول (١٠) : حدود التقدير لاثني عشر ميبد كارباماتي على طبقات كيسلجيل G-HR بطريقة
TLC-EI مع مستخلصات كبد الخنزير .

Pesticidea	Liver extracts			
	Pig		Steer	
	Frozen	Frozen-dried	Frozen	Freeze-dried
Aldicarb	50 (±)b	100 (±)	100 (±)	100 (±)
	30 (-)	50 (-)	50 (-)	50 (-)
Banol	0.5 (±)	15 (±)	5 (±)	10 (±)
	0.1 (-)	1 (-)	1 (-)	5 (-)
Baygon	10 (±)	50 (±)	100 (±)	100 (±)
	5 (-)	10 (-)	50 (-)	50 (-)
Carbaryl	0.1 (±)	0.5 (±)	0.5 (±)	5 (±)
	0.05 (-)	0.1 (-)	0.1 (-)	1 (-)
Carbofuran	1 (±)	50 (±)	100 (±)	100 (±)
	0.5 (-)	10 (-)	50 (-)	50 (-)
Carbofuran 3-OH	10 (±)	100 (±)	100 (±)	400 (±)
	5 (-)	50 (-)	50 (-)	300 (-)
Matacil	10 (±)	50 (±)	50 (±)	50 (±)
	5 (-)	10 (-)	10 (-)	10 (-)
Mesuirol	0.1 (±)	10 (±)	10 (±)	10 (±)
	0.05 (-)	5 (-)	5 (-)	5 (-)
Mobam	0.5 (±)	1 (±)	5 (±)	5 (±)
	0.1 (-)	0.5 (-)	1 (-)	1 (-)
Ortho 5353	1 (±)	5 (±)	5 (±)	5 (±)
	0.1 (-)	0.5 (-)	1 (-)	1 (-)
Tranid	100 (±)	400 (±)	300 (±)	100 (±)
	50 (-)	400 (-)	200 (-)	50 (-)
Zectran	100 (±)	500 (±)	300 (±)	100 (±)
	50 (-)	400 (-)	200 (-)	50 (-)

aTranid = 5 - chloro-6-oxo-2-norbornanecarbonitrile 0- (methylcarbamoyl) oxime (Union Carbide), 99.9%. Zectran = 4-dimethylamino-3,5-xylyl methylcarbamate (Dow Chemical Company, The Agricultural Products Department, Midland, Mich.), 99%. All the standards were dissolved in methanol and kept in refrigerator.

b(+) = TLC spots corresponding to the areas where enzymes were inhibited lasted 5 min; (++) = lasted more than 5 min but less than 30 min; (+++) = 30 min or more. (±) = spots lasted 1-2 min, and (-) = no enzyme inhibition detected. TLC plates were coated with 450-m-thick layer of kiesel-gel G-HR. the solvent was 20% acetone in cyclohexane.

Source : From Mendoza and Shields (36).

جدول (١١) : حدود الكشف عن المبيدات الحشرية الكلورينية مع المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية UV أو بدون .

Pesticide	Detection Limit (µg)			
	Without UV		With UV	
	Bovine liver esterase	Trypsin	Bovine liver esterase	Trypsin
p,p'-DDT	5 ^a	100 ^c	1	6
p,p'-DDE	5 ^a	100 ^c	1	6
p,p'-DDE	6 ^a	---	1	6
Dicofol	1	70	1	6
Methoxychlor	5 ^a	70	1	6
Perthane	2 ^a	---	1	6
BHC	---	---	1	5
Lindane	1	---	0.25	20
Isodrin	50	100 ^c	0.25	6
Endrin	50	---	0.3	7
Aldrin	10	100 ^c	0.25	5
Dieldrin	1	---	1	7
Heptachlor	1	---	0.25	5
Heptachlor epoxide	1 ^b	---	0.3 ^c	7
Chloridane	5 ^b	---	1 ^b	9
Isobenzan	5	---	0.25	6
Endosulfan	5	---	0.3	7
Toxaphene	1 ^b	---	1 ^b	20

aActivation of enzyme.

bSpots tailing

^cNot clearly detected.

Source : Data from Geike (38, 40).

ب (طريقة الالواح والانزيم الغير مباشرة An Indirect TLC-EI :

ليست مفيدة بنفس قدر الطريقة المباشرة وفيها تطيع البقع التي تحدثها المبيدات المثبطة للانزيم على الالواح الزجاجية على ورق ترشيع باستخدام جوهر كشاف معين يمسك على اللوح .. والجدول (١٢) يوضح الفرق بين هذه الطريقة وغيرها مع ١٧ مبيد فوسفوري .

جدول (١٢) : حدود تقدير ١٧ مبيد فوسفوري على السليكا جيل H بثلاث طرق للكشف .

Pesticide	Detection Limit ^a (μg)		
	Method A ^b	Meghod B ^b	Method C ^b
Azinphosmethyl	0.5	0.1 (blue)	1
Demeton-O	0.2	0.2 (mauve)	1
Demeton-5	0.5	0.2 (blue)	1
Diazinon	0.1	0.2 (Mauve)	0.2
Dimethoate	0.2	0.1 (blue)	0.2
Ethion	0.5	<0.1 (mauve)	1
Malathion	0.5	0.1 (mauve)	1
Mevinphos	0.2	n.d.	1
sMorphothion	1	<0.1 (blue)	0.2
Methyl parathion	0.5	0.1 (mauve)	1
Phenkapton	0.2	0.1 (blue)	1
Phorate	1	0.2 (blue)	1
Phosphamidon	1	0.2 (blue)	n.d.
Ronnel	0.1	0.2 (mauve)	n.d.
Schradan	n.d.	n.d.	n.d.
Vamidothion ^c	n.d.	0.1 (blue)	0.2
Vamidothion sulfone ^c	n.d.	0.1 (blue)	0.2

^an.d. = not detectable.

^bA = indirect TLC-EI technique; B = bromothymol blue-UV light; C = bromothymol blue-bromine; colors of spots in parentheses.

^cDestigation used by author in literature cited.

Source : From Bunyan (24)

(ج) الألواح المغطاة ذات البعدين Two dimensional TLC :

استخدم هذا التكنيك للكشف عن البيروثرويد والمركبات الأخرى .. وتوضح الجداول (١٣) ، (١٤) قيم الانسياب لبعض البيروثرويد والمبيدات الفوسفورية . في هذا التكنيك يتم التطور في المحلول المتحرك مرتان في اتجاهان ١ - .

(د) الألواح ذات الوسط المعكوس Reverse-phase TLC :

استخدم هذا التكنيك للكشف عن المبيدات حيث يتم تشميع أو تغليف الألواح المغطاة بحمض السليسيك بزيت أو زيت السليكون (وسط ثابت) قبل الفصل . الجدول (١٥) يحتوى على قيم الانسياب RF للمبيدات مع هذا النظام .

جدول (١٣) : يتم الانسياب RF $100 \times$ لمركبات البيروثرويد مع ٣ : ١ هكسان : خلاات الإثيل

Compound	First development	Second development
Pyrethrin I	50	60
II	30	41
Cinerin I	57	72
II	35	49
Pyrethrin I peroxide	—	23
II peroxide	—	11
Cinerin I peroxide	—	37 (23)
II peroxide	—	17
"Lumipyrethrin"	—	0
Allethrin	48	—
Piperonyl butoxide	35	—
Bucarpolate	23	—
S 421	67	—
Butter yellow	42	53
Indophenol	35	45
Sudan red G	27	36

Source : From Stahl (41).

جدول (١٤) : متوسط قيم الإنسياب R_F للمبيدات الفوسفورية على الواح السليكاجيل

Pesticide	R _f values ^{b,c}	
GROUP I	Solvent I	Solvent II ^d
Ronnel	0.91	0.83
Carbophenothion	0.90	0.50, 0.88
Carbophenothion oxygen analog		0.88
Carbophenothion oxygen analog sulfoxide		0.50
Plhorate	0.79	0.47, 0.90
Dyfonate	0.75	0.61
Ethion	0.74	0.41
EPN	0.74	0.82
Fenthion	0.71	0.05, 0.25
Disulfoton	0.71	0.22
Parathion	0.67	0.72
Methyl parathion	0.60	0.56
Thiono demeton	0.45	0.82 ^e
Dioxathion	0.16, 0.35 ^f	0.26, 0.37
Coumaphos	0.24	0.59
Malathion	0.12	0.65
Azinphosmethyl	0.07	0.44
Diazinon	0.07	0.53
GROUP II	Solvent II	Solvent III ^d
Famphur	0.87	0.64
Naled	0.82	0.96
Thiol demeton	0.76	0.52
Dichlorvos	0.70	0.89
Mevinphos	0.54	0.79
Phosphamidon	0.23, 0.48 ^f	0.51, 0.77
Dasanit	0.40	0.66
Dimethoate	0.34	0.13
Trichlorfon	0.25	0.55, 0.89
Dimethoate oxygen analog	0.05	0.13

^a Average of 10 determinations. Chromatography performed using a sandwich chamber at 23 to 26°C and from 50 59 65% relative humidity. Detection by horse serum cholinesterase inhibition and p-NBP.

^b Solvent systems : I = toluene, II = 25% heptane in ethyl acetate, III = ethyl acetate.

^c R_f values of all group II pesticides in solvent system I were less than 0.05. R_f values of group I pesticides in solvent system II (development before oxidation) were greater than 0.85.

^d R_f values of bromine oxidation products.

^e Nonreproducible R_f value. May depend on concentration of bromine. Two spots were present with both detection reagents. highest R_f value for phosphamidon represented stronger inhibitor, but p-NBP indicated it was a minor component.

Source : From Gardner (38)

Table 15. R_f (x 100) Values of Some Organic Phosphate Insecticides by Reverse-Phase Thin-Layer Chromatography^a

Insecticide	Silicic acid-mineral oil	Silicic acid-silicone oil
Colep	20	37
EPN	12	25
Methyl parathion	35	50
Parathion	25	30
P-Nitrophenol ^b	65	87
Phjenol ^b	50	70

^a Developing solvent : ethanol-water (1 : 1 : 2).

^b Reference materials.

Source : From Conkin (2)

: Revording of the chromatogram (هـ) تسجيل الكروماتوجرام

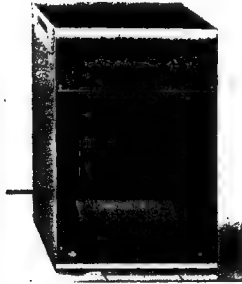
يمكن تسجيل الكروماتوجرام بطرق متعددة منها التصوير الفوتوغرافي أو الرسم بالأشعة أو قياس الكثافة الضوئية « سيكترودينسيومتري » أو تسجيل قيم الانسياب R_f ومساحة البقع . يجب تسجيل نوعية وكثافة الكروماتوجرام ويمكن تصنيفها إلى باهت ± Faint أو كثيف ± intense أو كثيف جدا ++ very intonse .. يمكن تسجيل لون البقعة وخلفية اللواح كما يجب ملاحظة الوقت الذي فصلت فيه البقعة ودوامها . يمكن تحديد مكان البقعة في حالة ما إذا كانت متخفى أو مستكشف بعد ذلك للتقدير الكمي .

(و) التحديد الكمي للكروماتوجرام Quantitation :

هناك طرق مختلفة للتقدير الكمي للمركبات بعد الفصل على الألواح المغطاة TLC . من هذه الطرق مقارنة مساحة المركب الغير معروف في مقابل المساحة الخاصة بالكمية المعروفة للمركب القياسي المقارن للمجهول . بالطبع يجب تعريف المركب المجهول قبل عمل هذه المقارنة . ولقد قارن kumar وآخرون عام ١٩٧٦ مساحة ووزن البقع والطرق اللونية للباراثيون كبارا اوكسون . وظهرت العلاقة بين مساحات التثبيت بالمليمتر المربع او المليليغرام في مقابل تركيز الباراثيون علاقة خطية في حدود ٥ الى ٥٠ نانوجرام باراثيون .

هناك طريقة اخرى تتمثل في قياس الكثافة الضوئية للمساحة على اللوح حيث تم وضع المبيد باستخدام جهاز قياس الطيف . يمكن استخدام المركبات المشعة والكشف عنها على الواح TLC بواسطة العداد المناسب مباشرة او بعد كشط الجيل .

استخدم تترات الفضة ونظام DTLC-EI لتقدير المبيدات الفوسفورية المحتوية على الكلورين في الجزء .



شكل (١٠) : جهاز قياس النشاط الإشعاعي على الألواح المغطاة TLC

يمكن ايضا استخدام الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC للتقدير الكمي للمبيدات بعد فصلها من على الجيل وتنظيفها خاصة فى حالة المبيدات الكلورينية . ويوضح الجدول رقم (١٦) معدلات الاسترجاع لهذه المبيدات على السليكاجيل او الالومينا . يمكن ايضا بعد كشط البقع المفصولة ان تجرى عليها عمليات تحليل مائى ونفاعلها وتحولها الى مشتقات ثم تذاب فى مذيب عضوى مناسب والكشف بالكروماتوجرافى الغازى .

استخدم Seifert and Davidak عام ١٩٧١ الطرق البولاروجرافية فى التقدير الكمي للفينثروثيون والفينثرواكسون بعد الكشف والفصل بالـ TLC-EI والتنظيف من خلال عمود الكروماتوجرافى وتراوح الانحراف القياسى ٧.٢٦٪ بينما وصل الانحراف فى البلاييمتر ٧.٢٠٪.

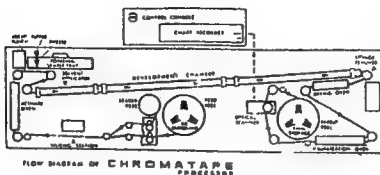
جدول (١٦) : معدل الاسترجاع للمبيدات على الواح الكروماتوجرام

pesticide	layerq	Percent recovery				
		Hexane	Acetone	Ethyl acetate	Dichloromethane	Chloroform
Gamma-BHC.	S	82	72	64	51	61
	A	77	65	64	43	57
p,P'-DDT	S	96	89	89	80	89
	A	87	75	83	84	
Dieldrin	S	94	97	91	88	92
	A	88	79	84	82	
Endrin	S	94	98	93	88	94
	A	88	80	85	84	
Heptachlor epoxide	S	92	89	84	74	80
	A	84	72	76	75	
p,P'-TDE	S	99	95	89	86	93
	A	87	77	82	83	
p,P'-DDE	S	95	97	98	90	95
	A	88	79	83	84	

aS = silica gel G; A = alumina G. Quantitation by gas-liquid chromatography.

Source : From Harrison (28).

والان .. تقسم البقعة المفصولة الى مساحات صغيرة جدا وتقاس بالدنسيومتر حتى نقلل من احتمالات الانحراف القياسى . حديثاً ظهرت فى المعامل وحدات متكاملة تعمل آلياً (شكل - ١١) تقوم بوضع النقط والفصل والاظهار وقياس الكثافة الضوئية أوتوماتيكياً .



* ٧ - الاختبارات التأكيديّة Confirmation :

يمكن فصل المركب القياسى مع المركب محل الاختبار للتأكد من التعريف . كذلك يمكن كشط البقعة وتحليلها بالكروماتوجرافى الغازى مع المركب القياسى . يمكن استخدام GC-mass (الكروماتوجرافى الغازى مع طيف الكتلة) وهذا يمكن عمله قبل او بعد الفصل بالالواح او بالـ Glc . كذلك يمكن استخدام التحليل بالأشعة تحت الحمراء للتأكيد كما فى حالة مبيد الروتينون .

* ٨ - العوامل التى تؤثر على كفاءة الفصل بالـ TLC :

* العوامل التى تؤثر على قيم معامل الانسياب Rf كما يلى :

- ١ - نوع مادة الامصاص (الوسط الثابت)
- ٢ - نوع المذيب او مخلوط المذيبات (الوسط المتحرك)
- ٣ - نوع الوسط الغير متحرك (الزيت المعدنى او السليكون) .
- ٤ - درجة الحرارة (جدول ١٧) .
- ٥ - الضغط البخارى (تشيع المذيب) فى حجرة الكروماتوجرافى .
- ٦ - سمك طبقة الجيل .
- ٧ - النشاط السطحى للجيل فى ادمصاص المركب محل الكشف .

* العوامل التى تؤثر فى الكشف عن المركب detection :

- ١ - كمية المركب تحت الاختبار على لوح الـ TLC .
- ٢ - انهيار أو تنشيط مركب الاختبار خلال الكروماتوجراف .
- ٣ - المواد المتداخلة مثل الزيوت والصبغات فى المستخلص .
- ٤ - نوع مادة الامصاص .
- ٥ - الملونات على اللوح الزجاجى او على طبقة الجيل او فى حجرة الكروماتوجرافى او فى المعمل

جدول (١٧) : إختلاف قيم RF مع حرارة الكشف

Compound	Rf x 100 at temperature (°C)					
	-20	0	10	20	30	40
Aldrin	33	55	68	77	85	90
p,P'-DDE	27	49	60	70	80	90
o,P'-DDT	20	37	50	58	68	77
p,P'-DDT	17	31	40	48	58	70
Dieldrin	1	7	10	12	12	12
Endrin	2	9	10	11	12	12
Heptachlor	22	45	55	65	75	86

Source : From Abbott et al. (42).

جدول (١٨) : جدول الكشف للمركبات الفوسفورية العضوية مع وبدون المعاملة

Resticide	Detection limit (ng)a]				
	No treatment	Bromine vapor (0.5 min)	Bromine water (15 min)	UV light (20 min)	Aqueous ammonia (15 min)
Butonate	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5
Coumaphos	n.d.	5	1	1	n.d.
Coumaphos-oxon	0.05	0.5	0.05	0.05	0.1
Disulfoton	n.d.	7	5	50	n.d.
Ethion	n.d.	0.5	0.5	0.1	n.d.
Ethoxon	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1
Azinphosmethyl	n.d.	0.2	0.05	1	n.d.
Azinphosmethyl-oxon	0.02	0.2	0.02	0.02	0.02
Malathion	n.d.	0.5	0.1	10	n.d.
Malaaxon	0.05	0.5	0.05	0.05	0.05
oxydemetonmethyl	10	10	10	10	10
Methyl Trithion	n.d.	0.5	0.05	1	n.d.
Methyl Trithion-oxon	0.5	2	1	0.5	1
Phorate	n.d.	5	5	50	n.d.
Phoratoxon sulfone	1	5	2	1	2
Mevinphos	0.1	n.d.	n.d.	1	n.d.
Ronnel	n.d.	1	0.05	5	n.d.
Ronnoxon	0.05	0.5	0.05	0.05	0.1

n.d. = not detectable.

Source : Form Ackerman (41).

جدول (١٩) : تأثير البرومين والأشعة فوق البنفسجية على مصبل ١٢ مبيد كارباماتي ثم وضعه على الكيسلجين والرئش بمستخلص الكبد

Compounds	Levels Evaluated (ng)	Br ₂	UV
Aldicarb	1000	Slight decrease	Decrease
Banol	10	Decrease	Decrease
Baygon	100	Decrease	Decrease
Carbofuran	10	Increase	Decrease
Carbofuran 3-OH	1000	Slight increase	Decrease
Mesuroi	10	Slight increase	Decrease
Mobam	10	No change	No change
Ortho 5353	100	No change	No change
Tranid	100	No change	No change
Zectran	100	Decrease	Decrease

Source : From Mendoza and Shields (36).

- ٦ - تلوث الحقنة أو محقن العينة أو زجاجة العينة والمذيبات المستخدمة لازالة العينة .
- ٧ - الشوائب فى الوسط المتحرك .
- ٨ - السمك الغير مناسب للجيل .
- ٩ - تداخل قيم الانسياب RF .
- ١٠ - نوعية وكمية جوه الكشف (يجب استخدام محلول الانزيم او محلول الرش الملون المجهزة حديثا (الطازجة) .
- ١١ - وقت التعرض الى العوامل المنشطة مثل الاشعة فوق البنفسجية UV او البرومين او اليود (يجب تقدير فترة التعرض المثلئ لهذه العوامل) .
- ١٢ - الشوائب فى الغاز المستخدم لتركيز العينة .
- ١٣ - نوع للمنشط (جدولى ١٨ ، ١٩) .
- ١٤ - نوع الجواهر الكشافة الخاصة بالاظهار .
- ١٥ - نوع الانزيم المستخدم فى طريقة TLC-BI .

قائمة المراجع REFERENCES

- 1 . Stahl, thin Layer Chromatography. A Laboratory Handbook, Springer Verlag, Berlin, 1965, p. 553.
- 2 . R.A. Conklin, Residue Rev. 6, 136 (1964).
- 3 . D.C. Abbott and J. Thomson, Residue Rev. 11, 1 (1965).
- 4 . J.J. Wise, in Analytical Methods for Pesticides, Plant Regulators and Food Additives, Vol. 5 (G. Zweig, Ed.). Academic Press, New York, 1967, p. 47.
- 5 . M.E. Getz, in Advances in Chemistry Series 104 (R.F.Gould, Ed.). American Chemical Society, Washington, D.C., 1971, p. 119.
- 6 . C.E. Mendoza, J. Chromatogr. 78, 29 (1973).
- 7 . K. Macek, I.M. Hais, J. Kopecky, and J. Gasparic, J. Chromatogr. Suppl. (1968).
- 8 . K. Macek, I. M. Hais, J. Kopecky, J. Gasparic, V. Rabek, and J. Churacek, J. Chromatogr, Suppl. 2, 532 (1972).
- 9 . K. Macek, I. M. Hais, J. Kopecky, V. Schwarz, J. Gasparic, and J. Churacek, J. Chromatogr. Suppl. 5, 340 (1976).

- 10 . C.E. Mendoza, *Residue Rev.* 43, 105 (1972) .
- 11 . C.E. Mendoza, *Residue Rev.* 50, 43 (1974).
- 12 . C.E. Mendoza, P. J. Wales, and D. F. Bray, *Analyst*, 93, 638 (1968).
- 13 . R. J. Hurtubise, kP.F. Lott, and J. R. Dias, *J. Chromatogr. Sci.* 11, 476 (1973).
- 14 . P.F. Lott, J. R. Dias, and R. J. Hurtubise, *J. Chromatogr. Sci.* 14, 488 (1976).
- 15 . H.G. Lowelady, *Microchem. J.* 14, 22 (1969) .
- 16 . D. J. Hamilton and B. W. Simpson, *J. Chromatogr.* 39, 186 (1969).
- 17 . A. Gruene, K. Nendel, Th. Pahi, K. Schubert, and G. Woff, *J. Riechst. Aromen. Doerperflegem* 19, 4949, 496, 498, 500 (1969).
- 18 . A Ej-Refai and T.L. Hopkins, *J. Agric. Food Chem.* 13, 477 (1965).
- 19 . V. Leoni and G. Puccetti, *Il Farmaco* 26, 283 (1971).
- 20 . R.W. Frei and P.E. Belliveau, *J. Chromatogr.*, 5, 392 (1972).
- 21 . S. Sinnappa and E. T. Chang, *Malaysian Agric.* 48, 20 (1971).
- 22 . B.M. Olived, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 65, 915 (1973).
- 23 . C.E. Mendoza and J. B. Shields, *J. Agric. Food Chem.* 21, 178 (1973).
- 24 . P.J. Bunyan, *analyst* 89, 615 (1964) .
- 25 . D.G. Crosby, E. Leitis, and W.L. Winterlin, *J. Agric. Food Chem.* 13, 204 (1965).
- 26 . N.V.M. Kumar, dK. Visweshwaqriah, and S.K. Majunder, *J. Assoc. Of- fic. Anal. Chem.* 59, 641 (1976).
- 27 . Z. Stefanac, B. Stengl, and Z. Vasilic, *J. Chromatogr.* 124, 127 (1976).
- 28 . R.B. Harrison, *J. Sci. Food Agric.* 17, 10 (1966) .
- 29 . C. E. Mendoza, P. J. Wales, H. A. McLeod, and W. P. Mckinley, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 51, 1095 (1968).
- 30 . J. Seifert and D. Davidek, *J. Chrometogr.* 59, 446 (1971).
- 31 . C.E. Mendoza, P. J. Wales, M. A. McLeod, and W.P. Mckinley, *analyst*, 93. 34 (1968).

- 32 . H. Ackermann, B. Luxow, and E. Plewka, J. Chromatogr, 44, 414 (1969) .
- 33 . R. R. Goodall, J. Chromatogr, 78, 153 (1973).
- 34 . P. J. Wales, C. E. Mendoza, H. A. McLeod, and W. P. McKinley, Analyst 93, 691 (1968).
- 35 . N. Nash, P. Allen, A. Bevenue, and H. Beckman, J. Chromatogr. 12, 421 (1963).
- 36 . C. E. Mendoza and J. B. Shields, J. Chromatogr, 50, 92 (1970).
- 37 . C. E. Mendoza, P. J. Wales, D. L. Grant, and K. A. McCully, J. Agric. Food Chem. 17, 1196 (1969).
- 38 . A. M. Gardner, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 54, 517 (1971).
- 39 . F. Geike, J. Chromatogr, 44, 95 (1969).
- 40 . F. Geike, J. Chromatogr, 52, 447 (1970).
- 41 . E. Stahl, Arch. Pharm. 293/65, 531 (1960).
- 42 . D.C. Abbott, H. Egan, and J. Thomson, J. Chromatogr, 16, 481 (1964).
- 43 . H. Ackermann. J. Chromatogr. 44, 414 (1969).
- 44 . C.E. Mendoza, H. A. McLeod, J.B. Shields, and W. E. J. Phillips, Pestic. Sci. 5, 231 (1974)

الفصل الثالث عشر

- الكروماتوجرافى الغازى والغازى السائل .

* مقدمة .

* اساسيات الكروماتوجرافى الغازى والغازى السائل .

* المكونات الاساسية لأجهزة الكروماتوجرافى الغازى .

أولا : مجموعة الغاز الحامل .

ثانيا : وحدة الحقن .

ثالثا : الاعمدة والفرن .

١ - مواصفات العمود المناسب .

٢ - العوامل المحددة لكفاءة العمود .

٣ - تجهيز العمود .

٤ - تهيئة العمود .

٥ - تقويم العمود .

رابعا : خطوات التشغيل والحقن .

خامسا : الكشفات :

١ - كشف التوصيل الحرارى .

٢ - كشف التأين باللهب .

٣ - كشف صائد الالكترونات .

٤ - كشف التنقيط الالى الدقيق .

٥ - كشف اللهب الضوئى .

٦ - كشف التأين باللهب القاعدى .

سادسا : المكونات الالكترونية الاساسية .

سابعا : تحضير المشتقات .

ثامنا : التحليل الوصفى .

تاسعا : التقدير الكمى

الكروماتوجرافي الغازي والغازي السائل

Gas Chromatography and Gas liquid Chromatography

مقدمة :

كما سبق القول شاع استخدام الكروماتوجرافي الغازي بصورة كبيرة في مجالات عديدة مثل البيئية والمبيدات وهي سريعة ودقيقة وتفيد في فصل المخاليط والتقدير النوعي والكمي وشاعت الآن الكشف المتعدد للمخلفات multi residue . اساس هذه الطريقة سرعة سريان سائل أو غاز ويمكن التفريق بين المركبات على اساس فرق الهجرة خلال منطقة مساحية ادمصاصية ويعتمد على فصل المكونات المبخرة اى فى الصورة الغازية والموزعة بين الوسط الثابت وهو مادة العمود والوسط المتحرك وهو الغاز الخامل . ليكن معلوما ان الوسط الثابت فى جهاز الكروماتوجرافي الغازي السائل GLC عبارة عن سائل غير متطاير موزع على المادة الصلبة الجافة . يمكن تشبيه طريقة الفصل الكروماتوجرافي الغازي بطريقة التقطير الجزئى حيث يقوم عمود الفصل اللوني بعمل وحدة التقطير .

يمكن حساب الحجم من الغاز اللازم لايخراج المركب وتوصيله الى وحدة الكشف والذي يطلق عليه Retention volume من المعادلة : $VR = TRFR$.

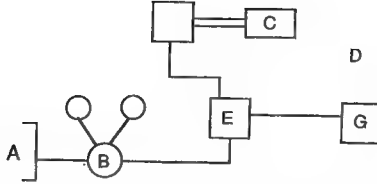
TR = الوقت اللازم مروره من وقت حقن العينة وحتى رسم قمة المتحنى وهي اختصار $Re-tention\ time$ أو وقت الاحجاز .

FR = معدل الانسياب Flow rate اى سرعة سريان الغاز الحامل وهو يقاس بمقياس الضغط ودرجة الحرارة .

* اساسيات الكروماتوجرافي الغازي والغازي السائل :

تحقن العينة فى فتحة الدخول (C) فى الرسم التوضيحي حيث تكون الحرارة مرتفعة ومضبوطة تبعا للمادة أو المواد المراد فصلها والكشف عنها حيث تقابل الغاز الحامل الساخن الداخل من المخزن (A) خلال منظم الضغط (B) ويقوم الغاز الساخن بحمل العينة خلال عمود الفصل اللوني (D) والمواد المفصولة تكشف بواسطة الكشف (F) حيث تسجل النتائج على ورق خاص يمكن باستعمال التجميع التجريبي للغاز الناتج عن النقطة (G) اجراء عمليات تحليل اخرى للتأكد من المواد المفصولة .

* لقد تم استرشدت بمحاضرات الزميل المرحوم أ . د. عبد المطلب شعبان استاذ المبيدات بكلية الزراعة جامعة عين شمس . والزميل أ . د . عبد السلام حسين قنصوة * رئيس قسم وقاية النبات بكلية الزراعة جامعة عين شمس .



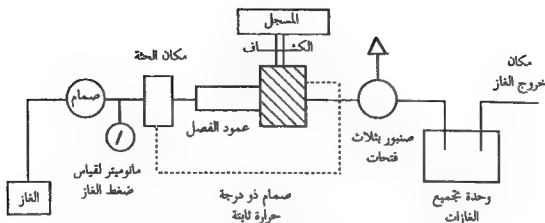
يطلق على الغاز الحامل الخامل الوسط المتحرك وهو يتدفق بمعدل سريان مضبوط من خلال منظم الضغط خلال عمود الفصل المعبأ بمادة صلبة مدعمة محمل عليها الوسط السائل أو الثابت . يتم توزيع مكونات العينة بين هذين الوسيطين بدرجات مختلفة وتبعاً لمعامل التوزيع Partition Coefficient ويعتمد لحد كبير على درجة الحرارة وبعد تجزئ مكونات العينة يحدث الانتشار والانتقال لمسافات تتوقف على كتلة كل مركب وفي النهاية تخرج المكونات من العمود إلى الكشف ويعرف كل مركب بمعيار R_t أي وقت الجس أو الحجز .

وكما سبق القول فإن الوقت من حقن العينة وحتى ظهور قمة المنحنى على الكروماتوجرام T_t تدعو أن يتساءل أي باحث عن سبب اتساع المنحنى من بداية الحقن والجابة أن تركيز المادة يكون عالياً في هذه المنطقة ويحدث الاتساع بسبب حركتها مع الغاز الحامل وتعرضها للانتشار الدوامي والانتشار الطولي والانتقال الكتلي . عندما تحدث مقاومة للانتقال الكتلي في العمود يحدث عدم اتزان وقتي لجزيئات المذاب بين الوسيطين الغازي والسائل وهذا من أهم أسباب اتساع المنحنى . لذلك يمكن القول أن ظهور منحنى متسع يعني عدم إيزان النظام بسبب الانتقال الكتلي البطيء في العمود وفي هذه الحالة تعالج الظروف من حرارة وسريان غاز وضغط بما يحقق الاتزان واختفاء هذه الظاهرة .

لقد أثرت الاطيل في تفسير هذه الظاهرة حتى لا يحدث بلبلة للقارئ ومن يريد مزيد من التفاصيل أن يرجع للمراجع المتخصصة وهي كثيرة .

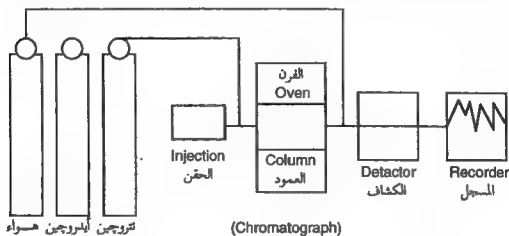
** المكونات الاساسية لأجهزة الكروماتوجرافي الغازي :

يتكون جهاز الكروماتوجرافي الغازي من مجموعة الغاز الحامل ومكان حقن العينات والعمود والفرن والكشف وكذلك يقاس فرق الجهد وضابطة درجة الحرارة للفرن والمسجل .. والرسم التالي يوضح مكونات احد اجهزة الكروماتوجرافي الغازي والاخرى مع الغاز السائلي GLC وبالرغم من التطور الهائل الذي حدث في هذه الاجهزة الا ان الاساسيات كما هي :



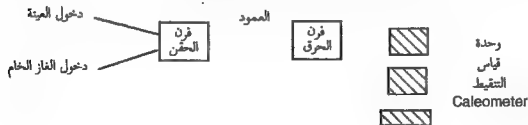
شكل (١) : رسم تخطيطي مبسط لجهاز الكروماتوجرافي الغازي .

توضع العينة في الجهاز بالحقن أثناء مرور الغاز الخامل في عمود الكروماتوجرافي وعندما تخرج المكونات من العمود يحس بها الكشف ويستجيب بدرجات معينة يتم تسجيلها على المسجل . يمكن جمع الأجزاء الخارجة من العمود والكشف عنها كيميا ونوعيا باستخدام وحدة الأشعة تحت الحمراء أو فوق البنفسجية . ويوجد في الأجهزة وحدات لقياس تدفق الغاز الخارج من العمود



شكل (٢) : رسم تخطيطي لجهاز الكروماتوجرافي الغازي - السائل .

وفيما يلي رسم تخطيطي لجهاز الكروماتوجرافي الغازي ذو التقطع الدقيق وله استخدامات خاصة .



فى هذا الجهاز يمر الغاز الحامل للمادة المطلوب الكشف عنها الى فرن الاحراق فتتحول الى غاز يمثل المركبات الغير عضوية وتحتوى انبوبة الاحراق على الاكسجين والبلاتين مما يسمح بتعطيم المركب على درجة ٨٠٠ - ٨٢٥ م وتتحول الى ثنائى اكسيد الكبريت تبعاً لتركيب المركب . عند وصول نواتج التكسير هذه الى خلية التنقيط الاوتوماتيكية تجرى عملية التقدير وتختلف مكونات خلية التنقيط تبعاً للمادة المطلوب الكشف عنها فاذا كانت ستكشف عن هاليد يجب ان تحتوى على الكترود فضة والكترود خلاص فضة فى وجود حامض خليك ٢.٨٥٪ . فى حالة قياس ثنائى اكسيد الكبريت تحتوى الخلية على الكترود بلاتين والاخر فضة مع يوديد الفضة فى محلول يتكون من ٤, ٠٪ حامض خليك مع ٤, ٠٪ يوديد بوتاسيوم . يستخدم هذا الجهاز فى تقدير مخلفات المبيدات وقد حدثت فيه تطويرات كثيرة .

توجد بعض الاجهزة ثنائية الغرض حيث تحتوى على مكونات الكروماتوجرافى الغازى العادية والثانى وحدة قياس المواد المشعة مثل السترينيوم H3 والكربون المشع C14 ، وسوف نشير بالتفصيل الى هذه الاجهزة .

يمكن القول ان الاختلافات بين الاجهزة تنحصر فى ثلاث نقاط : (١) حجم العمود ، (٢) نوع الكشف ، (٣) طريقة تحقيق الحرارة الثابتة . سوف نتناول فى هذا المقام باختصار شديد بعض التفصيلات عن مكونات اجهزة الكروماتوجرافى GC أو GLC :

* اولاً : مجموعة الغاز الحامل carrier gas :

يزود جهاز الكروماتوجرافى الغازى باسطوانات الغاز الخامل ويتوقف نوعها على الكشفات الموجودة فى الجهاز ومن اهم الغازات الهيليوم والنيتروجين والايدروجين ويتم التحكم فى معدل سريان الغازات من خلال منظم الضغط . يجب التنبيه بضرورة استخدام غازات على درجة عالية من النقاوة ومن اهم الشوائب التى تحثوبها الغازات الحاملة للماء والنيتروجين والايدروكربونات وثنائى اكسيد الكربون ، وتقول ان وجود شوائب مثل الماء والاكسجين يؤثر على الوسط الثابت او المتحرك او كليهما ويغير من وقت الاحتجاز R_t وحساسية الكشف خاصة صائد الالكترونات ECD . ويمكن تنقية هذه الغازات بطرق سهلة وميسرة أو استخدام مناخل جزيئية لا تسمح بمرور الشوائب واذا حدث خلل فى الكشف او المسجل يجرى تسخين على درجة حرارة ٣٠٠ م لمدة ٨ ساعات ولعدة ايام متتالية حتى يعود الكشف والمسجل لكفاءتهما العادية . يمتاز الهيليوم بالأمان عن النيتروجين وان كان النيتروجين يفضل فى اجهزة التنقيط الالكترونى Micro coulometer بشرط خلوه من الاكسجين متعا لتذبذب الاستجابة . يستخدم الأرجون فى بعض الاجهزة التى بها كاشف الثأين واللهب .

تزود هذه المجموعة بمنظم ذو مرحلتين للتحكم فى الضغط بما يتوافق مع الفصل والحساسية المطلوبة وكذلك المرشح بوضع بين منظم الضغط والجهاز للتخلص من الشوائب خاصة مع صائد

الالكترونات ويجب تغييره اذا حدث تلوث من الغاز الغير نقي ويستدل على ذلك من حدوث انحدار سريع لخلفية التيار الكشاف ECD . وهناك جهاز ضبط الانسياب وهو يوجد قبل العمود ويجب معايرته كلما تطلب الامر ذلك وهناك مقياس انسياب الفقاعات حيث يستخدم لقياس تدفق الغاز عند نقطة خروج الغاز من فتحة العمود ويمكن معايرته يتوصيل حمام خروج الغاز بسحاحة مملوءة بمحلول الصابون ويقدر معدل انسياب او تدفق الغاز يتوقف ارتفاع الفقاعات في السحاحة بوحدة الثانية ويستخدم ذلك التكنيك كذلك في تعاقب من توصيلات وحدة سريان الغاز .

ثانيا : وحدة الحقن :

تكون المبيدات في صورة سائلة أو مجهزة في مذيب عضوى ويتم الحقن في جهاز الكروماتوجرافى الغازى خلال صمام الحقن المكون من طبقة مزدوجة من المطاط او بعض اللدائن الاخرى وبفعل ذاتيا بعد الحقن ويتم حقن العينة باستعمال حقنة دقيقة ميكرومترية ويتم تهبة مكان الحقن بالتسخين في فرن مفرغ على درجة حرارة ٢٠٠م لمدة ساعات حتى لا يحدث نزيف للصمام كما يمكن الاحتفاظ به في مبرد الصمام بالتناوب على درجات حرارة منخفضة واذا حدث تلوث في وحدة الحقن وجب تغيير الصمام المطاط والصوف الزجاجي ومادة التصفية القريبة منه حتى لا يحدث فشل في كفاءة الكشاف والكروماتوجرام .

يجب الا يكون حجم العينة المحقونة كافيا للدرجة تسمح بتشبيع سطح العمود بدرجة تكفى للحصول على منحنيات واضحة تحت ظروف التشغيل وكل هذا يحتاج لمعايرة دقيقة وهناك انواع مختلفة من الحقن ذات الحجم الدقيق تنتج بواسطة شركات بكمان وهاملتون ولنا في مجال التأمين على ضرورة غسل الحقن جيدا بواسطة البترين او الاثير واذا حدث عطل في حركة مكبس الحقن فينسل بمحلول غسيل من ٤٠ مليلتر حامض كروميك + ٦ ، ٠ حامض كبريتيك مركز في ١٠٠ مليلتر ثم ينسل بالماء البارد والمقطر وهكذا .

يجب حقن العينة في الجهاز على صورة مركزة للحصول على منحنى مثالى (ضيق ومتماثل) والحجم المناسب يتراوح من ٢ - ٢٥ ميكروليتر في اجهزة GC العادية بينما يقل عن ذلك ١ - ١٠ ميكروليتر في اجهزة التقطير وكل هذا يتحدد من خلال للمعايرة والتجارب الاولية وظروف التشغيل والاجتهاد المطلوب ولكن بحساب ويجب التأكد من عدم حدوث اى خلل في وحدات الحقن من جراء ارتفاع الحرارة الى ٣٠٠م لان استعمال المطاط غير مناسب يؤدي الى ظهور مشاكل خطيرة وبعض الاجهزة تزود بوحدة تبريد مائية لمنع تأثير درجة الحرارة العالية على المبيدات محل الكشف عنها .

ثالثا : الاعمدة والفرن :

١ - مواصفات العمود المناسب :

يجب تجنب استخدام الاعمدة المعدنية لأنها قد تسبب تآكل بعض المبيدات بسبب التفاعل مع مادة العمود نفسه على درجات الحرارة المرتفعة لذلك يفضل وشيع استخدام الاعمدة ذو الانابيب

الزجاجية المصنوعة من البروسليكات أو الألومنيوم أو النحاس أو التفلون أو الصلب الذى لا يصدأ .
يعتبر اختيار اعمدة الفصل من أهم العوامل المسؤولة عن نجاح طريقة الكروماتوجرافى الغازى لتقدير
المبيدات ونواتج تمثيلها . تصنع الأعمدة فى اشكال مختلفة تشمل اللغيفة والأنبوب الشعري -ca-
pillary أو شكل حرف U . ويتراوح طول العمود من ١ - ٥٠ بوصة بينما القطر الداخلى من
القطر الشعري الى بوصة واحدة وأكثر الأعمدة شيوعا ذات الطول من ٢ - ١٠ بوصات وقطر
داخلى ١/٤ بوصة ولا توجد قاعدة عامة او توصية لتجهيز العمود من مادة معينة للفصل
الكروماتوجرافى الغازى ولكن بالتجربة واختبار العديد من الأعمدة المصنوعة من مواد مختلفة يمكن
اختيار افضلها بما يتلاءم مع المبيد أو المركب محل التحليل . .

ولسنا فى حاجة للقول ان الأعمدة القصيرة اقل كفاءة بسبب انخفاض درجة الثبات المطلوبة
للتحليل المتعدد ، كما ان صغر القطر الداخلى للعمود يزيد من فاعليته بشرط عدم التحميل الزائد
للعמוד عن طريق حقن عينة اكبر حجما من درجة تحمله ومرة اخرى نقول المعايير هي الاساس
والحكم . توضع الأعمدة داخل فرن معدنى مزدوج الجدار به مروحة لتوزيع درجة الحرارة باستمرار
ومنظم لدرجة الحرارة وبوجه عام فان درجة حرارة المحقن تزيد عن درجة حرارة العمود بمقدار من
٢٠ - ٥٠ م .

٢ - العوامل المحددة لكفاءة العمود :

من اهم العوامل المحددة لكفاءة العمود الدعامات الصلبة أو المادة المائفة للعمود وهى من
الديالومات البحرية أو الطين التى تعامل معاملات خاصة فى منتهى الدقة حيث تجرى عليها
عمليات تكلس ثم تغسل بالحامض أو القلوى وتعامل بالسليينات ثم تنخل ويفضل ان تكون احجام
الحبيبات متجانسة فى حدود ٣٠ - ٦٠ مش حيث تتميز بحرية الإنسياب والتعبئة المتجانسة
ومقاومة الضغط وبشروط فى المادة المدعمة :

١ - ان تكون ذات احجام دقيقة .

٢ - خاملة ليس بها مواقع نشطة .

٣ - ذات مساحة سطح اكبر بالنسبة لوحدة الحجم لزيادة الكفاءة .

٤ - تتميز بالثبات العالى ضد الحرارة والعوامل الميكانيكية .

يجب الحصول على هذه المواد من مصادر موثوق فيها والتأكد من عدم تلوثها خاصة بشوائب
الألومنيوم والحديد وغيرها التى تحلل وتكسر المبيدات وتؤدى لحدوث ظاهرة التذيل فى
الكروماتوجرام .

الوسط الثابت يجب الا يتفاعل مع المواد المارة فى العمود ومن ثم وكما قلنا سابقا يكون

ثابت في درجة الحرارة وله ضغط بخارى ولزوجة منخفضة وغالبا ما تكون نسبة الوسط السائل من ١٥-٧٤٪ من وزن المادة الصلبة . توجد الكثير من المواد التي يمكن ان تستخدم كوسط ثابت او طور سائل liquid phase او stationary phase ومن افضل المواد مركبات السليكون بسبب قدرتها الفائقة في فصل وتحليل المواد عالية القطبية وثباتها النسبي على درجة حرارة التشغيل المرتفعة .

٣ - تجهيز العمود :

يتطلب تجهيز العمود غسله من الخارج والداخل بالماء والصابون ثم الاسيتون والهكسان ثم يجفف جيدا ويملا بمادة التعبئة وهي المادة الصلبة المدعمة الحاملة والمخلقة بالطور الثابت بنسب معينة وتاثر كفاءة عملية الفصل بالنسبة بين الطور الثابت والمادة المدعمة .

من اهم طرق تحميل وتغليف المواد الصلبة المدعمة للطور الثابت : (١) طريقة الكأس الزجاجية Beaker Technique وفيها تتم اذابة الطور الثابت في مذيب عضوي مناسب في كأس زجاجي ويضاف اليه المادة المدعمة ويقب المخلوط جيدا ثم ييخر المذيب باستعمال تيار من الهواء أو التروجين مع التقليب المستمر اثناء التبخير وهذا التقليب قد يسبب مشكلة من جراء تحطيم او تفتيت جزيئات المادة المدعمة ، (٢) طريقة التبخير الدوراني بالتفريغ Rotary vaccum حيث يوضع الدورق المحتوي على مخلوط المادة المدعمة والوسط الثابت في حمام مائي ويوصل بوحدة المبخر الدور ، (٣) طريقة الغسيل Fluidization حيث تنقل العجينة السائلة الى اسطوانة التسييل وتجفف العينة بالتروجين والتسخين .

يجب على الباحث ان يتعلم كيف يجهز المواد المائلة للعمود وكيف يملأ العمود كذلك ولا غشاضة او حرج في التدريب على ذلك فقد تدربت شخصا وانا في درجة الاستاذية على هذه الطريقة في معامل شركة سوميتوموكيميكال في اليابان ولم اجد اية صعوبات بعد ذلك عندما طبقت ما تعلمته في معمل كلية الزراعة .

٤ - تهئية العمود :

(أ) يتم تثبيت العمود من ناحية فتحة الدخول inlet بغرفة الحقن ويترك حرا بلا اتصال من ناحية الخروج out let لمنع تسرب السائل المستنزف من العمود خلال التهئية على الكشف ويمرور الغاز الحامل خلال العمود وترفع درجة الحرارة لأكثر بمقدار ٤٠ - ٥٠ م عن درجة التشغيل بشرط الا تزيد عن الدرجة التي تتحملها مادة التعبئة لمدة ٧٢ ساعة وتختلف مدة التهئية تبعا لنوع الطور الثابت .

(ب) هناك التهئية بالسليينات حيث يتم التخلص من المواد النشطة الموجودة في مواد التعبئة وعلى الجدار الداخلي للعمود يستخدم مركب Silyl-8 والمعاملة هذه ضرورية لتجنب ادمصاص

المبيد على المواضع النشطة خاصة مع اعمدة الالومنيوم . تبدأ المعاملة بالسيلينات بعد نهاية فترة التسخين حيث تضبط درجة الحرارة على درجة حرارة التشغيل العادية ثم تحقن مادة السيليل - ٨ فى صورة محلول بحجم قدره ٢٥ ميكروليتر ويكرر الحقن ٤ مرات بنفس الحجم بين كل مرة والاخرى فاصل زمنى ٣٠ دقيقة وبعد ساعتان يتم توصيل العمود بالكشاف من ناحية الخروج .

(جـ) هناك التهيفة عن طريق ترسيب ابخرة الكربواكس وهذه طريقة شائعة مع المبيدات الفوسفورية لتقليل او تفادى مشكلة الادمصاص .

٥ - تقويم العمود

يتم تقويم العمود بعد الانتهاء من تجهيزه وتهيبته بهدف التأكد من كفاءته وثباته من خلال الاعتبارات التالية :

- تقدير الفاعلية أو الاداء Efficiency بحساب عدد الطبقات النظرية Tp .

* ملحوظة (١) : يمكن اضافة مواد مانعة للتفاعل فى اعمدة التحليل المستخدمة فى حالة المبيدات الكلورينية مثل الايبكون واستخدم نفس المادة مع المركبات المحتوية على الكبريت والتي تتحلل على درجة الحرارة العالية ٢٥٠ - ٣٠٠ م مما يؤدى الى فقدتها قبل الكشف والتقدير .

* ملحوظة (٢) : عدم تجانس المادة المائنة للعمود ووجود الجيوب الهوائية يعمل على اعطاء نتائج خاطئة ويصبح المنحنى غير متمائل (عريض ذو قمة منفرجة) . لذلك يمكن ملء العمود بواسطة جهاز يعمل بذبذبات معينة وعمل معايرة بعد ذلك لأن الذبذبات قد تفصل الحبيبات بعضها عن بعض بعد ملء العمود واخذ الاحتياطات اللازمة يجب ان يغطى العمود بقطعة من الصوف الزجاجي لحفظه .

رابعا : خطوات التشغيل والحقن :

عند بداية التشغيل يجب اعداد المسجل فى وضع بداية التشغيل على وضع الصفر Zero ووضع مقياس فرق الجهد عند البداية وابطال تيار الخلفية وهنا يصبح الجهاز معد للتشغيل وعندئذ يتم الحقن بالطريقة التى تلائم الطريقة والفرض من التحليل . هناك ثلاثة طرق اكتفى بذكر اسمها فقط وعلى القائم بالتحليل ان يتدرب على نوعية الجهاز الموجود فى معمله من قبل المختص وهى طريقة السحب المزوج وتدفق المذيب والسحب الفردى للخلف . وليكن معلوما ان هناك احتمال لحدوث خطأ كبير فى عملية الحقن تكون مسئولة عن الحصول على نتائج مضللة للغاية لذلك وجب التدريب كلما كانت هناك فرصة واسترجاع المعلومات الاولى عن كيفية اخذ الحجوم المناسبة فى الكيمياء التحليلية .

خامسا : الكشافات Detectors :

تعتبر الوسيلة التى تتولى التعرف وقياس والكشف عن المكونات الموجودة فى العينة المحقونة

والتي يحملها تيار الغاز معه من عمود التجزئة ويجب ان تتسم هذه الوحدات اى الكشافات بالبساطة والحساسية العالية والثبات الكافي والاستجابة السريعة لأية تغيرات . وتعتمد وحدات الكشف على الخواص الطبيعية للمركبات مثل الحجم الجزيئي والكثافة النوعية والاختصاص في مدى الاشعة IR و UV والتوصيل الكهربى والحرارى ... وغيرها ، وفي بعض الاجهزة توصل بها وحدة تحليل طيفى مستقل لتحديد والكشف عن النواج المنفصلة بالتوزيع الجزيئى وفي اجهزة اخرى توصل بها وحدة تنقيط كهربي تعتمد فى عملها على قياس فرق الجهد الكهربى وقد استحدثت اجهزة كروماتوجرافى الغاز ملحق بها وحدات للتقدير عن طريق طيف اللهب وقد استخدمت فى مجال تحليل المبيدات المحتوية على هالوجين والسيانيد .

يوجد حتى الآن ما لا يقل عن ٣٠ - ٤٠ نوع من الكاشفات وفيما يلى سرد مختصر لأهم الكاشفات ، مع ضرورة الاشارة بان التفضيل بين الكاشفات المختلفة يعتمد على الاختلاف فى التذبذب noise والحساسية sensitivity والخطية linearity والتخصص specificity ووقت الاستجابة response time .

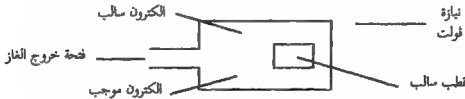
١ - كشاف التوصيل الحرارى (TCD) Thermal conductivity detector :

تستعمل خلية حرارية يطلق عليها كاشاروميتر والجزء الحساس عبارة عن سلك معدني واغلب ابخرة المواد العضوية ذات درجة توصيل حرارى اقل من الايدروجين والهيليوم والنيتروجين ووجود الابخرة فى الغازات الخاملة يقلل من الحرارة الخارجة من السلك . وهذه الطريقة حساسة جدا لسريان الغاز وقد صادفتني صعوبات كبيرة عند تقدير المبيدات بهذه الطريقة بسبب صعوبة التحكم فى ضغط الغاز وهذه الطريقة او الكشاف غير متخصص لأنه يحس ويتأثر بعدديد من المركبات ويفضل استخدام الهيليوم مع هذا الكشاف لأنه يمتاز بدرجة توصيل عالية للحرارة وحساسية تختلف مع المركبات .

٢ - كشاف التأين باللهب (FID) Flame ionization detector :

يمتاز بسهولة التشغيل والثبات وهو غير متخصص لأنه يستجيب للعديد من المركبات الكيميائية وغير حساس للمركبات الهالوجينية وهو يفيد جدا فى معامل مستحضرات المبيدات Formulation عن الكشف عن المركبات وتقدير نسبة المادة النوعية فيما يعرف quality control يستخدم فيها خليط من الايدروجين والنيتروجين وفيها يحترق الايدروجين فى الهواء عند فتحة اللهب حيث تتجمع الايونات السالبة التى تتكون باحترق المركبات الخارجة من العمود مع الغاز الخامل بسبب الفرق فى الجهد بين الانود والكاثود (الذى ينشأ عن الفولت المستعمل) ويؤدى ذلك الى زيادة الاشارة الموجبة التى تغذى جهاز قياس فرق الجهد الكهربى « اليكتروميتر » وهذا الكشاف لا يحس بغاز ثانى اكسيد الكربون او اكسيد النيتروجين ، ويفضل استخدام مرشح لمنع الاثرية من الوصول اليه . واعتقد ان اى مبتدئ فى استخدام الكروماتوجرافى الغازى عليه ان

يتطلب اولاً على هذا الكشف . يعطى هذا الكشف استجابة خطية تقريباً تتناسب مع زيادة عدد ذرات الكربون فى المركبات العضوية وتتأثر مدى الاستجابة الخطية بالتغير فى المكونات الغازية للهب وحساسية وتركيب المجمع . تقل حساسية الكشف بزيادة روابط الكربون مع الذرات المختلفة مثل السيلانيد او اول اكسيد الكربون أو تقدر حساسيته بالجزء فى المليون او الميكروجرام . وتتوقف حساسية الكاشف على معدل انسياب الغاز وكذلك قوة الفولت وحالة مجموعة اللهب .



٣ - كشف صائد الالكترونات (ECD) Electro capture detector :

يسمى كشف التريوم H_3 او النيكل Ni^{63} واساس عملها هو الاختلاف بين المركبات العضوية فى ميلها لأخذ الالكترونات بسبب وجود المجاميع النشطة الموجودة فى الجزيء وخاصة المجموعة التى تحتوى على الكربون - الأيدروجين ومن اهم المجاميع التى تتأثر بالالكترونات الكيتون والنيتر والهالوجينات . يمر تيار الغاز الخامل « النيتروجين » على مصدر له نشاط اشعاعى والطاقة المنطلقة لجزيئات بيتا يؤدى لتحمل جزيئ النيتروجين بالالكترون وتنجذب الالكترونات إلى الأنود نتيجة حدوث فرق فى الجهد بين الأنود والكاثود ولذلك تكتمل الدائرة بين القطب السالب والموجب . وعلى هذا يقوم النيتروجين بحمل الالكترونات او موصل للتيار ومن ثم ينتج عن الالكترونات المنبعثة اشارة تحلل كخلفية للتيار وتزداد شدة التيار بزيادة اللالكترونات داخل الغرفة عند دخول المركبات ذات الالكترون السالب مع الغاز الحامل الى غرفة الكشف تقوم بالتقاط الالكترونات مكونة ايونات سالبة ومن ثم تقل فرصة وجود الكترونات حرة لتوصيل التيار الكهربى فيحدث اختزال للتيار بوضوح ويسجله الالكتروميتر .

نقص التيار لا يتوقف على تركيز المادة فقط بل ايضا على قدرتها على التقاط الالكترونات . هذا الكشف غير متخصص ويتصف بالحساسية الكبيرة لتركيزات صغيرة حتى واحد جزء فى البليون ppb ، وتزداد الحساسية مع المركبات التى بها مجموعات سالبة . يلاحظ ان استجابة الكشف غير خطية مع المركبات العضوية المحتوية على مجموعات سالبة .

هذا الكشف شديد الحساسية للمركبات الهالوجينية والنترات ومجموعات الكربونيل المتبادلة مع روابط زوجية الا انه غير حساس للكحولات والمركبات الاليفاتية . تتأثر حساسية هذا الكشف بقوة الفولت وقوة المصدر المشع ومعدل انسياب الغاز الحامل ونقاوة الغاز الحامل .

* ملحوظة : اساس العمل ان ابخرة المركبات المقطرة مع الغاز الحامل تقبض بعض الالكترونات لتكوين مركبات عليها شحنة سالبة .

٤ - كشاف التقيط الألى الدقيق (Micro coulometer detector (MCD) :

فى عام ١٩٦٠ تم تصميم خلية للتقيط الالى توصل بجهاز الكروماتوجرافى الغازى مع وجود وحدة احتراق تحول المركبات العضوية الى مكوناتها الغير عضوية والتي تصل الى الخلية الكهربية لتقيطها وهو يفيد فى تقدير الهالوجينات . ما عدا مركبات الفلور وحساسيته فى حدود واحد جزء فى المليون الى جزء فى المليون . يفيد كذلك فى تقدير المركبات المحتوية على الكبريت . يحتاج هذا الكاشف الى تدريب كافى للمبتدى فى العمل بالجهاز الكروماتوجرافى الغازى .

٥ - كشاف اللهب الضوئى (Flame photometric detector (FPD) :

يستخدم فى الكشف عن المبيدات الفوسفورية العضوية فى حدود حساسية عالية جدا ١ نانوجرام ٢ واساس الطريقة انه عند احتراق الايدروجين فى وجود الاكسجين والهواء ينتج لهب مختزل ، وعندما تترق العناصر فى هذا اللهب يؤدى الى اثاره الالكترونات وم ثم تصبح فى حالة هياج غير طبيعى وعندما تخرج بعيدا عن اللهب تعود الى حالتها الطبيعية مصدرة طاقة فى صورة ضوء له طول موجى معين وهذه الطاقة المميزة لكل مركب تتحول الى طاقة كهربية بواسطة الانبوبة الضوئية ومن ثم تزداد الاشارة التى تغذى جهاز قياس فرق الجهد . الكاشف متخصص للفوسفور وهو يعطى علاقة خطية مع تركيز الفوسفور مع مرشح طوله ٥٢٦ ملليميرون كما يكون اختياريا لمركبات الكبريت عند طول موجة ٣٩٤ ملليميرون وتتأثر حساسية الكشاف بقوة الفولت ومعدل انسياب الغاز وحالة الانبوبة الضوئية وحالة الكشاف الذى يجب تنظيفه كل ٦ شهور .

٦ - كشاف التأين باللهب القاعدى

: Alkals flame ionization detector (AFID)

يصلح بكفاءة مع المبيدات الفوسفورية العضوية والمحتوية على ذرة نيتروجين وكذلك مركبات الكاربامات والترايزينات . هذا الكشاف يزيد من حساسية الكاشف للفوسفور الذى يتم اخماده كما سبق القول فى FID واستجابته للنيتروجين والهالوجين والكبريت تكون تقريبا على نفس المستوى لاستجابته لمركبات الفوسفور واساس العمل هو احتراق احد الاملاح القاعدية فى لهب الايدروجين البارد ، ومن ثم تتأين وتتجذب بشدة للالكترونات وتتوقف حساسية الجهاز على نوع القلوى أو القاعدة ومعدل انسياب الغاز . وكلما كان امداد اللهب بتركيزات ثابتة من القلوى زادت الحساسية .

سادسا : المكونات الالكترونية الاساسية :

سأقوم بذكر هذه المكونات بالاسم فقط مع التنبيه الى ضرورة التأكد من سلامتها عند كل تقدير واجراء تقدير أو الكشف عن عينة قياسية حيث يجب التأكد من ان اى تدريج فى اى مكان

على الصفر قبل بداية العمل .. ومنها :

١ - مقياس فرق الجهد Electrometer

٢ - ضبط درجة حرارة الفرن Temp-controller .

٣ - المسجل Recorder .

سابعا : تحضير المشتقات Derivatization :

بعض المركبات تتميز بانخفاض التطاير او الثبات الحرارى او ارتفاع القطبية او تتداخل عند الفصل الكروماتوجرافى مع مركبات اخرى كما انها قد تعطى منحنيات غير متمائلة بسبب الحساسية المنخفضة للكشاف لذلك يمكن التغلب على هذه العقبات من خلال تحويل المركب الاصلى الى احد مشتقاته الذى يتميز بالتطاير والثبات كما تختلف فترة الاحتجاز R_t عن المركب الاصلى وقد سبق الاشارة الى عملية الاشتقاق هذه ، وفى حالتنا هذه يجب ان تكون عملية الاشتقاق سريعة ولا يصاحبها اية تفاعلات جانبية أو تبديل فى المجميع الفعالة . ومن اكثر الصعوبات فى هذا المجال مييدات الكاربامات ومشتقات حامض الفينوكسى لأنها غير ثابتة حراريا وذات طبيعة قطبية ولا تتطاير على درجات الحرارة المنخفضة كذلك تجرى لها عمليات كيميائية مختلفة مثل الالكلة وغيرها للحصول على المشتقات المناظرة ، اما المبيدات الكلورينية لا تواجه مشكلة فى هذا الخصوص .

ثامنا : التحليل الوصفى Qualitative analysis :

يمكن تعريف العينات بعد الفصل الكروماتوجرافى الغازى من خلال مقارنة قيم فترة الاحتجاز بالقيم المنشورة فى الجداول بشرط ان يكون الفصل اجرى تحت نفس الظروف تماما بنفس الاجهزة والجواهر الكشاف .. وهنا يقال ان المقارنة تعتمد على فترات الاحتجاز النسبى $Relative\ RF$ وهناك ما يعرف بنظام مؤشرات الاحتجاز $Retention\ index\ system$ ونشير اليها :

بالنسبة لفترة الاحتجاز $Retention\ time$ أو RT يجب ان يؤخذ هذا المعيار بحذر شديد عند تعريف العينات المفصولة لأنه يتغير تبعاً لظروف التشغيل وحتى لو كانت مطابقة لما هو موجود فى المراجع من جراء سريان الغاز ودرجات الحرارة أثناء التشغيل لذلك يجب على الباحث الا يتمادى فى الجراءة والتعريف بناء على هذا المعيار طالما لا يملك او لا يوجد فى متناول يده المادة القياسية التى تؤكد التعريف .

قد يقوم البعض بنسب وتعريف المركبات المفصولة بالنسبة لمنحنى واضح ومحدد بناء على عينة قياسية وهذا ما يعرف بالاحتجاز النسبى $Relative\ retention\ time$ كمثال اخذ الالدرين

كمقياس عند الكشف عن المركبات الكلورينية بالكشاف صائد الالكترونات ECD او الايثيل باراثيون مع الكشاف الحرارى واللهب FPD وحسب الاحتجاز النسبى من المعادلة التالية :

$$\text{الاحتجاز النسبى} = \text{RRP}$$

المسافة من نقطة الحقن (مقدم المذيب وقمة المنحنى للمركب المراد قياسه)

المسافة بين نقطة الحقن وقمة منحنى المرجع

وتختصر الى RRTA للالدين و RRTP للايثيل باراثيون . ويفيد هذا المعيار فى حالة تحديد النسبة بين مشابهات المركب الواحد (ظهور أكثر من منحنى) .

اما نظام مؤشرات او دليل الاحتجاز Retention index يعتمد على وجود علاقة خطية بين لوغاريتم فترة الاحتجاز وعدد ذرات الكربون وهى غير شائعة .

يحمل القائم بالتحليل الى تعريف منحنى المركب المجهول بعد الفصل الكروماتوجرافى حتى اذا وجدت او كانت العينة القياسية غير متوفرة ، وفى هذه الحالة عليه ان يقوم بحساب فترة الاحتجاز تحت ظروف التشغيل ويقارنها بفترة الاحتجاز فى الجدول المنشورة وبين موقع مبدئى عن نوع المركب ثم يحقن المركب القياسى ليتأكد من التعريف الاولى ، واذا كان هناك اختلاف يسود لتغيير ظروف الفصل بما يتمشى مع المركب القياسى .. ويمكن للباحث ان يستعين باكثر من عمود وتؤخذ النتائج الأكثر وثوقا وتطابقا مع المركب القياسى .

تاسعا : التقدير الكمى :

قبل التقدير الكمى لا بد من معايرة الجهاز وتحديد الظروف المناسبة للفصل من جميع الواجه حرارة وغاز والتأكد من سلامة العينات القياسية وحساسية الكشاف لحدود التركيزات الضئيلة ووضوح الاستجابة للمركب وسلامة منحنيات الكروماتوجرافى .

قبل البداية يجب عمل منحنى قياسى يمثل العلاقة بين التركيزات والاستجابة وهناك اعتقاد بان هذه العلاقة دائما خطية Linearity ولكنها تختلف من كشاف لآخر ، ويمكن رسم العلاقة بينهما على ورق لوغاريتمى او نصف لوغاريتمى .. والمعادلة التالية تساعد فى تحديد التركيز :

$$\text{تركيز العينة} = \frac{\text{تركيز المركب القياسى} \times \text{استجابة العينة}}{\text{استجابة المركب القياسى}}$$

هناك عدة طرق لحساب كميات المبيد كميًا من منحنيات الكروماتوجرافى الغازى وتوقف الطريقة حسب شكل المنحنى ومنها قياس ارتفاع المنحنى Peak height يسقط خط من مركز المنحنى الى خط الاساس ولا يصلح مع المنحنيات الصغيرة والثانية قياس المساحة Area وتجرى بطريقة رسم المثلثات ، ومساحة المثلث = $\frac{1}{2} \times$ القاعدة \times الارتفاع وفى النهاية تجمع مساحات المثلثات الصغيرة التى اقيمت ، وهناك الطريقة البلانيومترية Planimetry حيث يستخدم جهاز البلانيومتر لحساب مساحة المنحنى حيث يرسم خط الاساس ويمرر البلانيومتر حول حدوده ويحدد المساحة مباشرة من قراءة الجهاز وهو يفيد فى حالة المنحنيات الغير متمائلة ... وكانت تستخدم قديما طريقة قص المنحنى ووزنه ويعييبها عدم تجانس الورق والرطوبة واحتمال عدم الدقة عند قص الورق .

معنى ذلك ان ارتفاع المنحنى والمساحة الخاصة به تتخذ كعلاقة خطية تدل على التركيز وكمية المبيد الموجودة وتتأثر هذه العلاقة بالعوامل التالى :

درجة الحرارة	سرعة سريان الغاز الحامل
نوع الكشف	حجم العينة ونظافتها

عدم تحضير العمود جيدا

عدم اجراء عملية التهيئة جيدا

لكل من يعمل فى هذا المجال ويتطلع لتفصيلات كاملة عن اساسيات واستخدامات الكروماتوجرافى الغازى ان يرجع الى كتاب :

Pesticide Analytical Manual vol. 1. foods and Feeds Chapter3

ومحتويات هذا الجزء ... كما فى الصفحات التالية :

Pesticide Analytical manual - Vol. 1
Foods and Feeds

GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY
Contents

CHAPTER 3

GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY

300	Application of GLC to Pesticide Residue Analysis	7/1/75
300.1	Principles	7/1/75
300.2	Instrumentation and apparatus	7/1/75
300.3	Reagent	7/1/75
33.4	Standards	7/1/75
300.41	Standard mixtures	7/1/75
300.42	For quantitation	7/1/75
300.5	Injection	7/1/75
300.51	Syringe handling and injection	7/1/75

300.52	Injection volumes	7/1/75
300.6	Quantitative measurement of gas chromatographic peaks in pesticide residues analysis	7/1/75
300.61	Methods in use.	7/1/75
300.62	Peak parameters	7/1/75
300.63	Comparison of methods	7/1/75
300.64	Calculation of certain residues	7/1/75
300.64a	Toxaphene	7/1/75
300.64b	Toxaphene and DDT	7/1/75 and 06/79
300.64c	Chlordane	06/79
300.64d	PCB	06/79
300.64e	DDT	06/79
300.64f	Benzene hexachloride	06/79
300.64g	Compounds with metabolite residues	06/79
300.65	Author's references	06/79
Table 300.6-A		06/79
Table 300.6-B		06/79
Exhibits 300.6-A through E		7/1/75
301	GAS CHROMATOGRAPHIC COLUMNS	7/1/75
301.1	Introduction	7/1/75
301.2	Solid supports	7/1/75
301.3	Liquid phases	7/1/75
301.4	Column equipment	7/1/75
301.5	Preparation of column packing	7/1/75
301.6	Packing and conditioning columns	7/1/75
301.7	Criteria for acceptable columns	7/1/75
301.8	Column deterioration	7/1/75
301.9	Column preparation for adsorptive compounds	7/1/75
310	DETECTORS	7/1/75
310.01	References	7/1/75
310.1	Introduction	7/1/75

311	ELECTRON CAPTURE (EC) DETECTOR	06/80
311.01	References	06/80
311.1	Principles and Terminology	06/80
311.11	Principles : ^3H source, pin-cup cell, DC voltage EC detector.	06/80
311.12	Principles : ^{63}Ni source, constant current, variable frequency EC detector	06/80
311.2	Application	06/80
311.3	^3H source, pin-cup cell, DC voltage EC. detector	06/80
311.31	Detector characteristics	06/80
311.311	Selectivity	06/80
311.312	Sensitivity	06/80
311.313	Linearity	06/80
311.32	Equipment for ^3H source, pin-cup cell, DC voltage EC detector	06/80
311.321	Detector design	06/80
311.322	Electrical accessories	06/80
311.323	Other accessories	06/80
311.33	Operating parameters	06/80
311.331	Installation	06/80
311.332	Detector temperature	06/80
311.333	Position of anode	06/80
311.334	Flow rate	06/80
311.335	Electrometer setting	06/80
311.336	Detector voltage	06/80
311.337	Detector cleanliness	06/80
311.34	Detector operation	06/80
311.35	Handling and cleaning the ^3H EC detector	06/80
311.351	General rules for handling the radioactive materials related to EC detectors.	06/80
311.352	Ordering and shipping of ^3H foils	06/80
311.353	Cleaning the ^3H pin-cup EC detector	06/80
	Figure 311.3-A	06/80
	Figure 311.3-B	06/80
	Figure 311.3-C	06/80
	Figure 311.3-D	06/80

311.4	^{63}Ni source, constant current, variable frequency	
	EC detector	06/80
311.41	Detector characteristics	06/80
311.411	Selectivity	06/80
311.412	Sensitivity	06/80
311.413	Linearity	06/80
311.42	Equipment for ^{63}Ni source, constant current, variable frequency EC detector	06/80
311.421	Detector design	06/80
311.422	Electrical accessories	06/80
311.423	Carrier gas	06/80
311.43	Operating parameters	06/80
311.431	Installation	06/80
311.432	Detector temperature	06/80
311.433	Flow rate	06/80
311.434	Electronic controller	06/80
311.435	Detector cleanliness	06/80
311.44	Detector operation	06/80
311.45	handling and cleaning the ^{63}Ni constant current detector	06/80
	Figure 311.4-A	
	Figure 311.4-B	
	Figure 311.4-C	
	Figure 311.4-D	
	Figure 311.4-E	
312	MICROCOULOMETRIC DETECTOR (MCD)	7/1/75
312.01	References	7/1/75
312.1	Principles	7/1/75
312.2	Detector operation	7/1/75
312.21	Mode I	7/1/75
312.22	Mode II	7/1/75
312.3	Detector characteristics	7/1/75
312.31	Selectivity	7/1/75
312.32	Sensitivity	7/1/75
312.33	Linearity	7/1/75
312.4	Application	7/1/75
312.5	Recommended steps toward successful MCD operation	7/1/75

	Figure 312.2-A	7/1/75
	Figure 312.2-B	7/1/75
	Table 312.2-A	7/1/75
313	Potassium Chloride Thermionic Detector (KCTD)	7/1/75
313.01	References	7/1/75
313.1	Principles	7/1/75
313.2	Application	7/1/75
313.3	Detector characteristics	7/1/75
313.31	Selectivity	7/1/75
313.32	Sensitivity	7/1/75
313.33	Linearity	7/1/75
313.4	Equipment	7/1/75
313.41	Detector design	7/1/75
313.42	Electrical accessories	7/1/75
313.43	Other accessories	7/1/75
313.431	Equipment	7/1/75
313.432	Reagents	7/1/75
313.433	Preparation of KCTD coil	7/1/75
313.433a	Coil 1	7/1/75
313.433b	Coil 2	7/1/75
313.434	Application of KCl to coil 1 and 2	7/1/75
313.434a	Method 1	7/1/75
313.434b	Method 2	7/1/75
313.5	Operating parameters	7/1/75
313.51	Detector installation	7/1/75
313.52	Baseline current	7/1/75
313.53	Detector operation	7/1/75
313.6	Troubleshooting	7/1/75
	Figures 313.32-A and B	7/1/75
314	FLAME PHOTOMETRIC DETECTOR (FPD)	7/1/75
314.01	References	7/1/75
314.1	Principles	7/1/75
314.2	Application	7/1/75
314.3	Detector characteristics	7/1/75
314.31	Selectivity	7/1/75
314.32	Sensitivity	7/1/75
314.33	Linearity	7/1/75

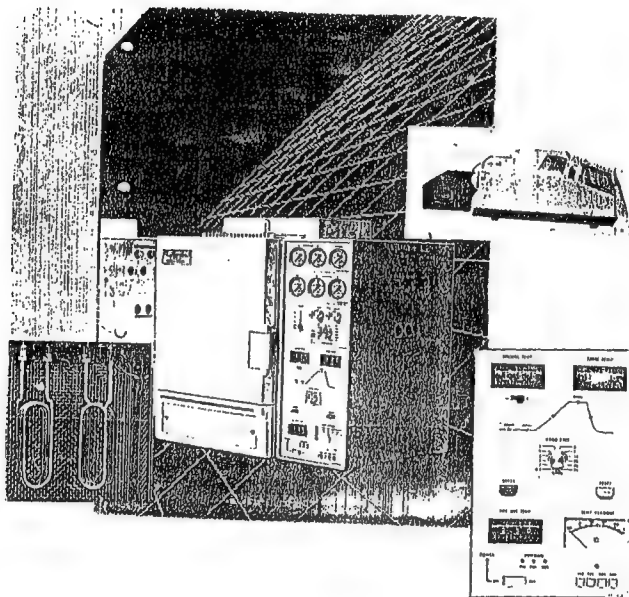
314.34	Compound degradation	7/1/75
314.4	Equipment	7/1/75
314.41	Detector design	7/1/75
314.42	Electrical accessories	7/1/75
314.43	Other accessories	7/1/75
314.5	Operating parameters	7/1/75
314.51	Detector installation	7/1/75
314.52	Detector voltage	7/1/75
314.53	Detector gas flows	7/1/75
314.54	Detector temperature	7/1/75
314.55	Detector operation	7/1/75
314.6	Troubleshooting	7/1/75
315	HALL ELECTROCONDUCTIVITY DETECTOR	9/82
315.01	References	9/82
315.1	Principles	9/82
315.2	Application	9/82
315.3	Hall(8) 700A detector, halogen mode	9/82
315.31	Detector characteristics	9/82
315.311	Selectivity	9/82
315.312	Sensitivity	9/82
315.313	Linearity	9/82
315.32	Equipment and Reagents	9/32
315.33	Operating parameters	9/82
315.331	Installation	9/82
315.332	Reaction tube temperature	9/82
315.333	Reactant gas flow	9/82
315.334	Solvent flow rate	9/82
315.34	Detector operation	9/82
315.35	Troubleshooting	9/82
	Figure 315.3-A	
	Figure 315.3-B	
	Figure 315.3-C	
	Figure 315.3-D	
	Figure 315.3-E	

316	NITROGEN/PHOSPHORUS (N/P) DETECTOR	10/1/78
316.01	References	10/1/78
316.2	Application	10/1/78
316.3	Detector characteristics	10/1/78
316.31	Selectivity	10/1/78
316.32	Sensitivity	10/1/78
316.33	Linearity	10/1/78
316.4	Equipment	10/1/78
316.41	Special features of the various designs	10/1/78
316.42	Accessory equipment and reagents	10/1/78
316.5	Operating parameters	10/1/78
316.51	Detector installation	10/1/78
316.52	Gas flow rates	10/1/78
316.53	Detector temperatures	10/1/78
320	MULTIPLE DETECTORS	7/1/75
320.01	Introduction	7/1/75
320.1	Condition of sample	7/1/75
320.2	Carrier gases	7/1/75
320.3	Physical arrangement	7/1/75
321	ELECTRON CAPTURE (EC) AND POTASSIUM CHLORIDE THERMIONIC (KCTD) DUAL DETECTION SYSTEM	7/1/75
321.01	References	7/1/75
321.1	Principles	7/1/75
321.2	Application	7/1/75
321.3	Detector characteristics	7/1/75
321.4	Equipment	7/1/75
321.41	Detectors and electrical accessories	7/1/75
321.42	Other accessories	7/1/75
321.5	Operating parameters	7/1/75
321.51	Detector installation	7/1/75
321.511	In-series assembly	7/1/75
321.512	In-series split assembly	7/1/75

321.513	Parallel assembly	7/1/75
321.52	Detector operation	7/1/75
321.6	Troubleshooting	7/1/75
	Figure 321-A	
330	GLC PARAMETERS AND DATA	1/82
330.1	Introduction	1/82
Table 331-A. Relative retention times and responses : DC 200 (or OV-101) column - 3H electron capture detector		1/82
Figure 331-A. Chromatogram		7/1/75
Table 331-B. Relative retention times and responses : DC 200 /QF-1 column - 3H electron capture detector		7/1/75
Figure 331-B. Chromatogram		7/1/75
Table 331-C. Relative retention times and responses : DEGS column - 3H electron capture detector		7/1/75
Figure 331-C. Chromatogram		7/1/75
Table 331-D. Relative retention times and responses : LLQF-1/DC 710 column - 3H electron capture detector		7/1/75
Figure 331-D. Chromatogram		7/1/75
Table 331-E. Relative retention times and responses : OV-210 column - 3H electron capture detector		7/1/75
Figure 331-E. Chromatogram		7/1/75
Table 331-F. Relative retention times and responses : OV-225 column - 63Ni constant current EC detector and FPD-P detector		1/82
Figure 331-F. Chromatogram		1/82
Table 331-G. Relative retention times and responses : KOV-17 column - 63Ni constant current EC detector and FPD-P detector		4/83
Figure 331-G. Chromatogram		9/83
Table 332. Microcoulometric detector tables (none)		7/1/75
Figure 332. Chromatogram		7/1/75
Table 333-A. Relative retention times and responses : DC 200 column - KCI thermionic detector		7/1/75

Figure 333-A. Chromatogram	7/1/75
Table 333-B. Relative retention times and responses : DC 200/QF-1 column - KCl thermionic detector	7/1/75
Figure 333-B. Chromatogram	7/1/75
Table 333-C. Relative retention times and responses : DEGS column - KCl thermionic detector	7/1/75
Figure 333-C. Chromatogram	7/1/75
Table 334. Flame photometric detector tables	9/82
Figure 334. Chromatogram	7/1/75
Table 334-A. Relative retention times : DEGS column	4/83
figure 334-A. Chromatogram.	9/82
Table 335. HECD tables (explanation)	9/1/77
Table 335-A. Relative times and responses : DC 200 column - HECD (nitrogen mode)	9/1/77
Figure 335-A. Chromatogram	9/1/77
Table 336. N/P detector tables (none)	10/1/78
figure 336-A. Chromatogram	6/79
figure 336-A. Chromatogram	6/79

سورة التالية توضح شكل جهاز الكروماتوجرافى الغازى GC اذى يوجد فى معمل بحوث
 ليل المبيدات فى كلية الزراعة / جامعة عين شمس .



قائمة المراجع الخاصة بأساسيات الـ GLC

- (1) Keulemans, A.I.M., Gas Chromatography, 2nd Ed, Reinhold Publishing Co., New York, 1960.
- (2) Littelwood, A.B., Gas Chromatography, Academic press, Inc., New York, 1962.
- (3) Dimbat, M., Porter, P.E., and Stross, F. H., Anal. Chem. 28, 296 (1956).
- (4) Fredericks, E.M., and Brooks, F. R., *ibid.*, 28 301 (1956).
- (5) Dal Nogare, S., and Juvet, R.S., Jr., Gas-Liquid Chromatography. Interscience Publishers, Inc., New York, 1962.
- (6) Cremer, E., and Muller, R., Mikrochim Acta. 553 (1951).
- (7) Hawkes, S. J., and Russell, C.P., J. Gas Chromatog., 3, 72 (1965).
- (8) Bartlet, J.C., and Smith, D. M., Can. J. Chem., 38, 2057 (1960).
- (9) Bartlet, J.C., and Smith, D. M., private communication to Food and Drug Administration, U.S. Department of Health, Education, and Welfare (1962).
- (10) Iverson, J. L., private communication, Food and Drug Administration. U.S. Department of Health, Education, and Welfare (1962).
- (11) Hartmann, H., and Dimick, K.P., Residue Reviews, 4, Springer Verlag New York, 1963.
- (12) Cochrane, W. P., and Grenchalgh, R., JAOAC 59 696-702 (1976).
- (13) Sovocool, G. W., Lewis, R.G., Harless, R. L., Wilson, N. K., Wilson, N.K., and Zehr, R.D., Anal. Chem. 49 734-740 (1977).
- (14) Lawrence, J. H., Barron, R. P., chen, J. - Y. T., Lombardo, P., and Benson, W. R., JAOAC 53, 261 (1970).
- (15) Zitko, V., Chemosphere 7 3-7 (1978).
- (16) Metcalf, R. L., Organic Insecticides : Their Chemistry and Mode of Action, Interscience Publishers, Inc., New York, 1955.
- (17) Lehman, A. J., Summaries of Pesticide Toxicity, Food and Drug Administration, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Washington, D.C. 20204.

اشكال توضح كيفية اقامة ورسم خط الاساس :

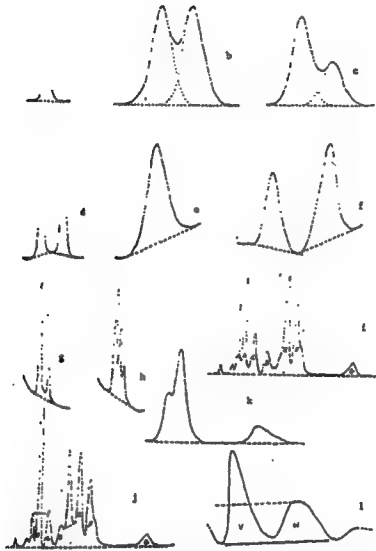


Fig. 2 - Baseline construction for some typical gas chromatographic peaks, a, symmetrical separated flat baseline; b and c, overlapping flat baseline; d, separated (pen does not return to baseline between peaks); e, separated sloping baseline; f, separated (pen goes below baseline between peaks); g, m- and y - BHC sloping baseline; h, α -, β -, and y-BHC sloping baseline; i, chlordane flat baseline; j, heptachlor and heptachlor epoxide superimposed on chlordane; k, chair-shaped peaks, unsymmetrical peak; l, p,p'-DDT superimposed on toxaphene.

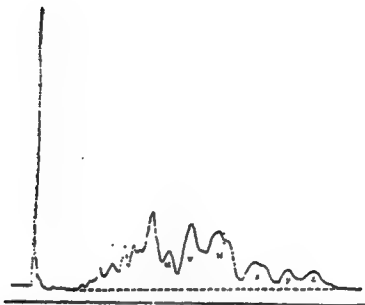


Fig. 3a - Baseline construction for multiple residues with standard toxaphene.

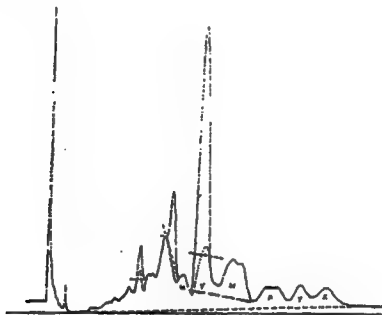


Fig. 3b - Baseline construction for multiple residues with toxaphene, DDE and o,p'-, and p,p'- DDT.

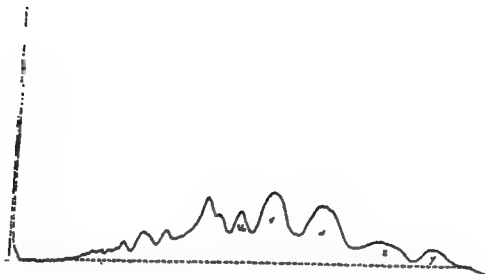


Fig. 4a - Baseline construction for multiple residues standard toxaphene.

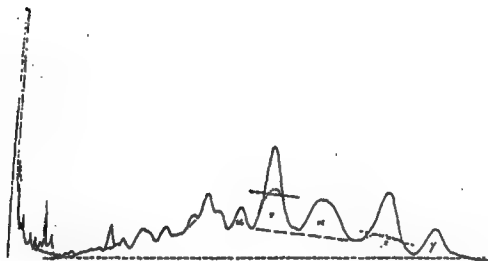
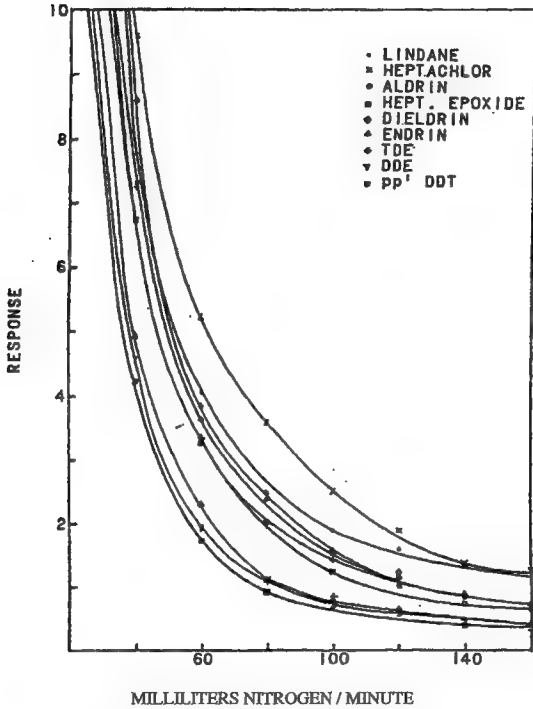


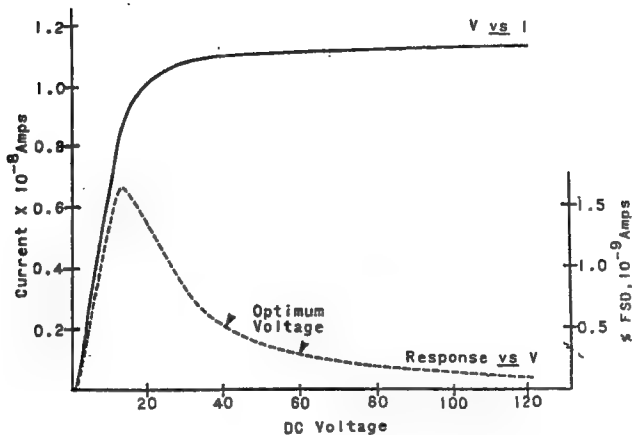
Fig. 4b - Baseline construction for multiple residues ; rice bran with BHC, toxaphene, DDT, and methoxychlor.

رسم يوضح انسياب الغاز الحامل على الاستجابة .



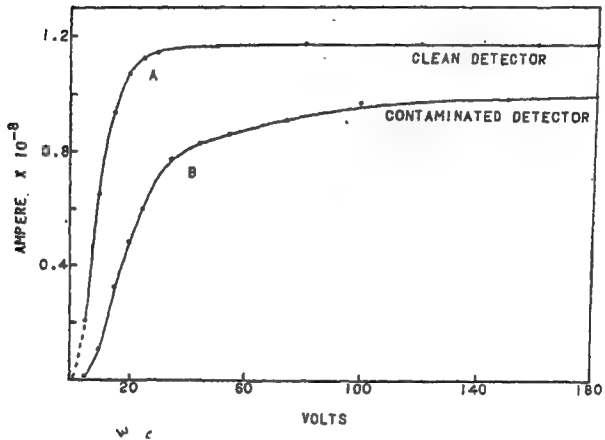
Effect of column carrier gas flow rate on response (in arbitrary units)
3H pin-cup DC voltage EC detector. From reference (4).

تأثير الفولت على التيار الكهربى (المنحنى العلوى) واستجابة الكشف لمبيد الهبتاكلور
ايوكسيد بتركيز ١ نانوجرام .



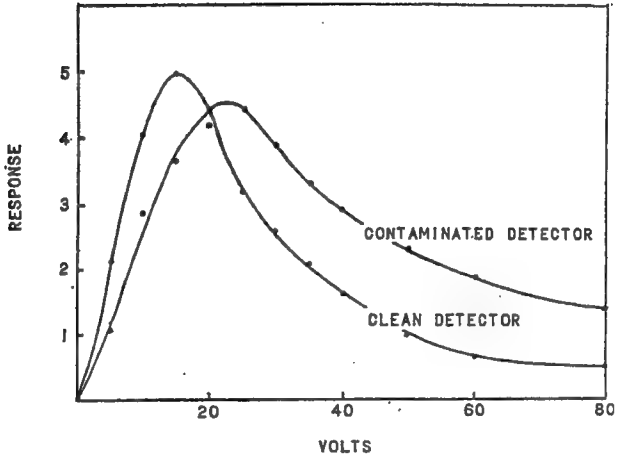
Effect of voltage on : 1) current (upper curve, left hand scale); and 2) de-
tector response to 1 ng heptachlor expoxide (lower curve, right hand
scale) for 3H pin-cup DC voltage EC detector. From reference (3).

تأثير تلوث الكشف على منحنى الامبير - الفولت .



Effect of detector contamination on the voltage-ampereage lcurve of 3H pin-cut DC voltage EC detector; operated at 200°C, with 120 ml/min nitrogen gas flow; contamination was caused by a bleeding column. From reference (4).

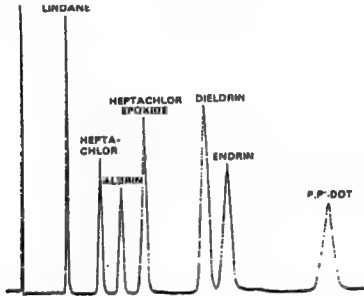
تأثير تلوث الكشاف على منحنى الفولت - الاستجابة .



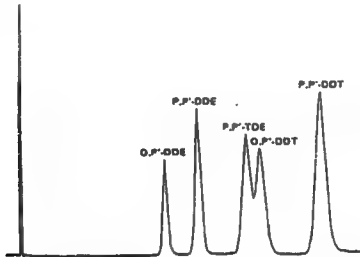
Effect of detector contamination on the voltage-response curve of 3H pin-cut DC voltage EC detector; response (in arbitrary units) is to 0.2 ng aldrin. Form reference (4).

كروماتوجرام الفصل بين المبيدات الكلورينية .

Chromatograms from DC 200-EC GLC
GLC conditions as listed in Table 331.A. except
OV.101 is substituted for column liquid phase DC 200.



1. Chromatogram of 0.61 ng. lindane, 0.525 ng. heptachlor. 0.55 ng aldrin, 1008 ng. heptachlor epoxide, 1.645 ng. dieldrin. 1.59 ng endrin, 1.815 ng p.p. DDT.



2. Chromatogram of 1.51 ng o.p. DDE, 2.025 ng p.p. TDE, 2.1 ng. o.p. DDT. 3.18 ng. p.p. DDT.

**** فيما يلي قائمة تحتوي على قيم فترات الاحتجاز النسبية** Relative retention times **للمعدي من المبيدات منسوبة الى قيمة الاحتجاز الخاصة بالمبيد الفوسفوري كلوربيريفوس ، ولذلك يمكن لأى باحث ان يعتمد على القيم النسبية بشرط توفير المبيد القياسى للكلوربيريفوس فى معمله وبشرط ان يعمل على نفس الظروف الواردة بطرق الفصل الكروماتوجرافى الغازى - السائل .**

Pesticide Analytica Manual-Vol. 1
Foods and Feeds

GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY
Table 331-A

Table 331-A. Relative Retention Times and Responses : DC 200 (or OV-101)
Column-3H electron capture detector.

Vasic References :

Burke, J., and Giuffrida, L., JAOAC 417, 326-432 (1964); Armour, J., J. Chromatog. 72, 275-2828 (1972). Supplemented by continuing FDA private communications, 1967-present.

Application :

General purpose. Analysis for residues of at least some compounds of all chromatographable pesticide classes which cause response by electron capture detector.

Column :

Galss; 6' x 4 mm i.d.; 10% DC 200 (12,500 ost) or OV-101 on 80/100 mesh Chromosorb W HP. Liquid phase dissolves in chloroform for coating. Conditioned at 250°C, with N₂ flow, at least 16 hours. (Lower percentage of liquid phase and lower carrier gas flow rate will produce the same relative retention times if column temperature remains the same. See 301 and 330.1 (1) for discussions of column substitutions.)

Detector :

Unless otherwise noted, responses are those of concentric type electron capture detector; tritium source (311.3); where the response is marked "Ni", the value refers to the response of a ⁶³Ni constant current detector (311.4).

Operating conditions :

Column temperature :

200°C, or a temperature which permits lindane to elute at 0.48 relative to chlorpyrifos and p,p'-DDt to elute at 3.09 relative to chlorpyrifos.

Pesticide Analytica Manual-Vol. 1
Foods and Feeds

GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY
Table 331-A

Injector temperature :

225°C.

Carrier gas and flow rate :

N₂ at 120 ml/min (or lower flow rate for lower liquid load; see comment above under Column.)

Detector temperature :

200°C.

Sensitivity :

DC voltage and electrometer setting at wh-i-ch 1.5 ng chlorpyrifos causes 1/2 full scale recorder deflection (FSD) : usually voltage , 100 v, sensitivity of 1 x 10⁻⁹ or 3 x 10⁻⁹ afs.

Reference compound :

Retention times reported relative to chlorpyrifos, which elutes in approximately 4.25 minutes from a column with 10% liquid phase and 120 ml/min flow rate. Retention times measured from leading edge of solvent peak.

NOTE : The change to chlorpyrifos as the "marker" compound for relative retention times and responses is new with this revision. Use of chlorpyrifos (molecular formula C₈H₁₁NO₃PS) permits the same marker to be used with all detectors of interest in pesticide analysis. Most lrrt values in this table were obtained by recalculation from the existing rrt (aldrin) values.

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chlorpyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
101	p-dichlorobenzene	0.03	37
79	dibromchloropropane (Nemagon)	0.04	0.6V
196	1,3,5-trichlorobenzene	0.06	2.5
195	1, 2, 4-trichlorobenzene	0.07	3
46	dichlorvos (DDVP)	0.07	6
194	1, 2, 3-trichlorobenzene	0.08	1.5
122	allidochlor (Radox)	0.09	4
48	trichlorfon	0.1	-
90	monuron	0.1	150-200

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
41	diuron	0.11	15-30
97	neburon	0.11	15-30
172	dichlobenil (Casoron)	0.11	0.5
1123	hexachlorocyclopentadiene	0.12	0.4
121	mevinphos (Phosdrin)*	0.13	18
1087	dimethyl phthalate*	0.14	25
413	hydroxy chloroneb	0.15	5
(12)	dicamba methyl ester	0.19	2
	bis (trichloromethyl) disulfide	0.19	unknown
271	chloroneb	0.19	9
1281	methyl 2, 3, 5 - trichlorobenzoate	0.23	0.6
1250	pentachlorobenzen	0.24	0.3
	2, 3, 4, 6-tetrachloroanisole	0.24	0.7
	2, 3, 5, 6-tetrachloroanisole	0.24	unknown
144	tecnazene (TCNB)	0.29	0.5
301	propachlor (Ramrod)	0.29	7
18	chloranil	0.30	5-10
	2, 4-dichloro- 6 - nitroaniline	0.30	0.4 (Ni)
277	2, 4-D methyl ester	0.30	6
22	chloropropham (CIPC)	0.32	1000-2000
266	trifluralin*	0.34	1.2
288	benfluralin (benefin)*	0.35	0.8
160	phorate (Thimet)*	0.36	20-30
(38)	dinitro-o-cresol methyl ether*	0.36	0.4
151	sulfallate (CDED)	0.38	3
8	BHC (technical)	0.39,0.48	1-2
213	BLHC, alpha-	0.39	0.4
	2, 3, 4, 5-tetrachloroanisole	0.39	unknown
130	simazine	0.18, 0.40	200
66	dicloran (Botran)	0.41	0.5
162	dimethoate*	0.41	4.5
532	theiometon	0.41	20
6	atrazine	0.42	200

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
219	2, 4-D isopropyl ester	0.42	10
255	BHC, beta-	0.43	1.8
124	propazine	0.18, 0.44	200
321	diazinon oxygen analog*	0.44	300
361	amiben methyl ester	0.44	0.8
80	hexachlorobenzene	0.44	0.4
276	silvex methyl ester (2, 4, 5-TP methyl ester)	0.45	0.7
280	pentachlorophenyl methyl ether	0.45	0.4
503	terbutylazine	0.47	100
77	lindane (gamma BHC)	0.48	0.5
275	2, 4, 5-T methyl ester	0.49	1
258	BHC, delta-	0.50	0.4
111	quintozene (PCNB)	0.51	0.3
639	pentachlorobenzonitrile	0.51	0.5 (Ni)
456	pronamide (kerb)	0.51	1.5
47	diazinon*	0.51	25
495	dinitramine*	0.52	0.6
326	chlorothalonil (Daconil 2787)	0.53	0.5
270	terbacil	0.54	10
32	dichlone	0.55	3
320	parathion=methyl oxygen analog*	0.55	11
142	tetraiodoethylene*	0.55	4
268	chlordene	0.56	0.65V
425	metribuzin (Sencor)*	0.57	1.7
309	dichlormate (Sirmate, 3, 4 isomer)	0.57	5
308	Sirmate, 2, 3 isomer	0.57	3
278	2, 4-DB methyl ester	0.62	28
222	2, 4-D isobutyl ester	0.62	5
1037	di-isobutyl phthalate*	0.63	80
	2, 3, 4, 5 - tetrachloronitroanisole	0.64	unknown

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
	2, 3, 6-tetrachloroanisidine	0.65	1
109	propanil (Stam F-34)	0.66	4
226	2, 4, 5-T isopropyl ester	0.67	2
402	pentachloroaniline	0.67	1.2
166	dichlofenthion (Nemacide)	0.67	1.3
88	parathion-methyl*	0.69	3
	vinclozolin	0.69	1.2 (Ni)
	2,3,4, 6-tetrachloroanididine	0.69	unknown
	2,3,4, 6-tetrachloronitroanisole	0.70	unknown
	2,4-D n-butyl ester	0.72	40
	2,3,5,6-tetrachloronitroanisole	0.72	0.6
	2,3,4,5-tetrachloroanisidine	0.76	1
	alachlor (Lasso)	0.76	7
	picloram methyl ester	0.76	1.3
	prometryn	0.77	1000
	parathion oxygen analog*	0.78	5-10
	ronnel (fenchlorphos)	0.80	1
	heptachlor	0.81	0.7
	O,p' -dichlorobenzophenone (a)	0.82	4
	o,p' -dicofol (o, p' -kelthane) (a)	0.82, 4.1	100
	- chlordene (from tech. chlordane)	0.82	2
	chlordene epoxide	0.48	0.6 (Ni)
	linuron	0.85	28V
	pirimiphos-methyl	0.85	100 (Ni)
36	di-n-butyl phthalate*	0.87	85
83	malathion*	0.89	20-30
	dichlofluanid	0.89	2.2 (Ni)
63	cylanzine (Bladex)	0.89	10
316	Zytron	0.90	3
	pentachlorophenyl methyl sulfide	0.92	0.6

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chlorpyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
269	bromacil*	0.92	20
	2,4,5-T isobutyl ester	0.94	1
473	-chlordene (from tech. chlordane)	0.96	1.5
42	chlorfenethol (Dimite)	0.80, 0.97	15-20
472	-chlordene (from tech. dchlordane)	0.98	1-105
423	1-hydroxychlordene	0.99	1.3
389	p,p' -dichlorobenzophenone (a)	0.99	3
69	p,p' -dicofol (p,p' -kelthane) (a)	0.99 , 4.4	20
110	parathion*	1.00	1.4
184	dicapthion (phosnichlor)	1.00	1.7
56	DCPA (Dacthal)	1.01	1.2
2	aldrin	1.02	0.8
(345)	Dacthal monoacid	1.05	0.7
282	4- (2, 4, 5-TB) methyl ester	1.07	1.5
16	chlorthion	07	60-70
	2, 4, 5-T n-butyl ester	1.10	1
429	bromophos	1.11	1.3
296	cypromic	1.12	6
149	isobenzan (Telodrin)	1.12	1
515	pirimiphos-ethyl	1.12	142
467	isopropalin	1.14	1.6
94	isodrin	1.17	1
458	chlorfenvinphos	1.17	3.5
	pea auxin (natural product)	1.17	200 (Ni)
207	o,p' - TDE olefin	1.19	12
17	captan	1.19	1.5
44	danilazine (Dyrene)	1.23	7V
119	folpet (Phaltan)	1.23	3
	olyfluanid	1.26	3.3 (Ni)
530	phenthoate	1.26	5
134	sulphenone	1.27	4

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chlorpyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
459	- chlorfenvinphos	1.27	2.5
63	heptachlor epoxide	1.27	1
407	octachlor epoxide (oxychlordan)	1.29	1
	dihydrokepone	1.34	unknown
19	chlorbenside	1.39	2
	photodieldrin 8 (b)	1.43	2
	amino-nitrofen	1.44	60
153	p,p' -TDE olefin	1.45	7
209	trans chlordan (alpha)	1.46	1
493	perthane olefin	1.50	40
186	Genite 923	1.50	2
204	o,p' -DDE	1.51	2
233	2, 4-D propylene glycol butyl ether ester	1.54	20
348	tetrachlorvinphos (Gardona)	1.54	3
448	Methyl Trithion oxygen analog	1.55	9.5
294	p,p' -DDA methyl ester	1.60	180
139	endosulfan (Thiodan)	1.61, 2.12	1-2
235	endosulfan I (Thiodan I)	1.61	1-5
104	ovex (chlorfenson)	1.61	3
210	cis chlordan (beta)	1.63	1
330	trans nonachlor	1.70	2
234	2, 4-D butoxy ethyl ester	1.82	12
28	p,p' -DDE	1.85	1.5
34	dieldrin	1.87	1.5
223	2, 4-D isooctyl ester (technical)	1.74, 1.88, 2.13	50
61	DEF*	1.89	4
205	o, p' -TDE	1.90	2
	monohydrokepone	1.94	unknown
(39)	dinex (DNOCHP) methyl ether*	1.94	2.5
511	oxadiazon	1.97	11

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chlorpyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
198	nitrofen (TOK)	2.03	2
50	endrin	2.09	2
224	2, 4-D ethyl hexyl ester	2.11	8
236	endosulfan II (Thiodan II)	2.12	2
5	Aramite	2.00, 2.14	10.000
95	Methyl Trithion	2.16	5
113	Perthane	2.17	100-250
100	binapacryl*	2.19	3
	p, p' -methoxychlor, monochloro ethylene analog (c)	2.27	35
21	chlorobenzilate	2.31	75
314	chloropropylate	2.33	85V
465	lelptophos photo product	2.34	3
	endrin aldehyde (d)	2.35	4
230	2, 4, 5-T propylene glycol butyl ether ester	2.38	—
202	p,p' -TDE	2.38	3.5
437	Chlormidine (Torpedo)	2.39	3
	2, 8-dihydromirex (mirex photoproduct)	2.41	3.5 (Ni)
421	Cis nonachlor	2.42	1.8
201	o, p' - DDT	2.49	4
53	ethion*	2.51	12
476	Compound k (from tech. chlordane)	0.83, 2.53	5-6
	endrin alcohol (d)	2.55	3.5
664	chlorthiophos	2.24, 2.36, 2.56	5 (Ni)
354	tetrasul	2.64	4
	10, 10-dithydromirex (mirex photoproduct)	2.67	7 (Ni)
300	endosulfan sulfate (Thiodan sulfate)	2.72	5
67	chlordecone (kepone)	2.76	4-5
116	Prolan	2.81	4
597	chlormijtrofen (MO)	2.85	5

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
147	carbophenothion (Trithion)	2.89	4
	perthane, trichloroethane analog (e)	2.89	6
231	2,4, 5-T butoxy ethyl ester	2.91	4
232	2, 4, 5-T isooctyl ester (technical)	2.56, 2.96, 3.26	20
542	p, p' -methoxychlor olefin	2.97	8
1098	butyl benzyl phthalate*	3.06	25
31	DDT (technical)	0.37 , 2.49, 3.09	5
200	p, p' -DDT	3.09	4
70	Captafol (Difolatan)	3.11	32
	2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin	3.16	40-90
462	o,p' -methoxychlor	3.27	8
10	Bulan	3.39	3
35	Dilan	2.33, 2.81, 3.39	5-10
	p, p' -methoxychlor, dichloroethane analog (f)	3.43	250
337	enjdrin ketone (Delta Keto 153) (d)	3.6	5
265	propargite (Omite)*	3.06 , 3.7 , 5.9	2000
390	dieldrin chlorohydrin	3.8	3
	8-monohydromirex (mirex photoproduct)	3.8	5 (Ni)
285	nitralin (Planavin)*	3.8	4.5
81	phosmet (Imidan)*	4.0	1.5
68	dinocap (karathane)*	4.0, 4.3, 4.8, 5.1	60
442	o, p' -dicofol (kelthane) (a)	0.82, 4.1	100
51	EPN*	4.3	5
	10-monohydromires (mirexs photoproduct)	4.3	7 (Ni)
579	benzoylprop-ethyl (Suffix)	4.3	13
340	photodieldrin A (b)	4.4	6
347	bromopropylate*	4.4	12
69	p, p' -dicofol (kelthane) (a)	0.99, 4.4	20
(87)	methoxychlor (technical)	0.47, 1.67, 4.6	9-10
87	p, p' -methoxychlor	4.6	8-10

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
368	tetrasul sulfoxide	4.7	5
138	tetradifon (Tedion)	5.0	6
60	azinphos-methyl (Guthion)*	5.1	50
199	phosalone (Zolone)	5.4	7
445	leptophos (Phosvel)	5.7	10
165	mirex	5.8	8
SD-7438*	5.9	12	
154	azinphos-ethyl (Ethyl Guthion)*	5.3	45
1038	di-2-ethylhexylphthalate*	6.5	170
318	dialifor (Hercules 14503)	6.5	28
	n-acetyl nitrofen	6.6 (skewed)	500
175	coumaphos (Co-Ral) oxygen analog.	7.4	170
349	bensulide (Prefar)*	9.5	120
15	coumaphos (Co-Ral)	9.7	100-150
(203)	hexachlorophene dimethyl ether	9.7	7
1035	di-n-octyl phthalate*	12.0	360
203	hexachlorophene	13V	380V
	octachlorodibenzo-p-dioxin	31	35
Multiple Peak Chemicals			
168	TEPP*	0.04, 0.1, 0.2 1.57, 2.14	4000V
229	2, 4, 5-T BEP ester (technical)	0.16, 0.68, 1.08 2.85, 3.31, 5.3, 7.0	35
1018	Aroclor 1221	0.21, 0.27, 0.32, 0.37, 0.40, 0.53, 0.60, 0.65 0.70, 0.77, 0.90, 1.01, 1.30, 1.45, 1.55, 1.80, 1.90, 2.12, 2.27, 2.70, 3.16	40
399	Aroclor 1242	0.40, 0.52, 0.58, 0.68	

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chlorpyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
		0.73, 0.88, 0.98, 1.05, 1.24, 1.42, 1.52, 1.78, 1.87, 2.24, 2.61	50
1092	Aroclor 5442	0.40, 0.53, 0.60, 0.69, 0.76, 0.91, 1.01, 1.09, 1.28, 1.45, 1.53, 1.81, 1.90, 2.27, 2.65, 3.14, 3.7, 4.2, 4.6, 5.0, 5.3, 5.8, 6.4, 6.9, 7.9, 8.2, 8.7, 9.9, 11.5 (peaks continue to appear to relative retention time of 21; Faster eluting column recommended	250
20	chlordan (technical)	0.45, 0.63, 0.71, 0.81, 0.97, 1.16, 1.45, 1.62, 2.61	12
398	Aroclor 1248	0.52, 0.58, 0.68, 0.82, 0.87, 0.98, 1.05, 1.26, 1.42 1.52, 1.78, 1.88, 2.24, 2.59, 3.10	50
	endosulfan alcohol (Thiodan alcohol) (g)	0.64, 1.31, 1.67, 2.11	14
225	2, 4-D BEP ester (technical)	0.69, 1.66, 2.00, 3.22, 4.01, 10.2	60
370	Aroclor 1254	0.89, 1.00, 1.07, 1.30, 1.55, 1.82, 1.92, 2.24, 2.68, 3.14, 3.7, 4.2 4.4, 5.0, 5.9	30

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chlorpyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
1157	diisooctyl phthalate*	0.91, 5.5, 6.2, 6.7, 7.6, 9.0, 10.5	850
137	Strobane	1.09, 1.32, 1.53, 1.80, 1.94, 2.09, 2.33, 2.69, 2.10, 3.7	40
146	toxaphene (camphechlor)	1.20, 1.54, 1.80, 2.39, 2.68, 3.12, 3.7, 4.4, 4.6, 5.1	30
1020	Aroclor 1262	1.29, 1.53, 1.89, 2.11, 2.27, 2.66, 2.88, 3.12, 3.6, 4.2, 5.0, 5.9, 6.5, 6.7, 8.0, 9.3	20
371	Aroclor 1260	1.31, 1.53, 1.90, 2.11, 2.26, 2.68, 2.90, 3.14, 3.6, 4.2, 5.0, 5.9, 6.6, 8.0, 9.3	20
1094	Aroclor 4465	2.08, 2.22, 2.67, 2.88, 3.11, 3.6, 4.2, 4.5, 5.0, 5.4, 5.9, 6.5, 6.6, 8.0, 9.3, 12.1 (and peaks eluting ell beyond normal retention times ; faster eluting column recommended)	40
113	Aroclor 5460	(peaks elute well beyond normal retention time range; faster eluting column recommended)	

Pesticide Analytical Manual-Vol. 1
GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY
Table 331-A

Food and Feeds

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
	5, 10-dihydromires (mirex pholtoproduct)	2.14, 2.47, 3.21, 4.3	100 (Ni)
1187	dilsohexyl phthalate*	2.45, 2.66, 2.90, 3.28	340
1244	Aroclor 1268	3.8, 4.7, 5.4, 7.0, 8.8, 10.0, 13.1, 16.2	30 (Ni)

*Not chlorinated.

- (a) p,p' and o. p' dicofol degraes on the GLC column to the respective dichlorobenzophenone, which also appears as al peak. The degree of degradation (ratio of dichlorobenzophenone peak to parent peak) varies from column to column.
- (b) Burke, J.A., Bull. Environ. Contamin. and Toxicol. 4, 152-158 (1969).
- (c) 2, 2-bis (p-methoxyphenyl) - 1 - chloroethene. [Prepared by alkaline treatment of 2,2-bis (p-methoxyphenyl) - 1, 1 - dichloroethane.]
- (d) Phillips, D.D., et al., J. Agr. Food Chem. 10, 217 (1962).
- (e) 2, 2-bis (p-ethylphenyl) - 1, 1, 1-trichloroethane. [Prepared per : Forrest, James, et al., J. Chem. Soc. 333-9 (1946)]
- (f) 2, 2-bis (p-methoxyphenyl)- 1, 1-dichloroethane. [Prepared per : U.S. patent # 2,484, 057, Oct. 11, 1949]
- (g) 1, 4, 5, 6, 7- 7-hexachloro-2, 3-bis (hydroxymethyl) - bicyclo- [2, 2, 1] heptene-5.

الفصل الرابع عشر

★ كروماتوجرافى السائل عالى الاداء

High performance liquid chromatography (HPLC)

* من افضل الاجهزة فى الكشف عن مخلفات المبيدات فى المكونات البيئية المختلفة مهما كانت درجة تواجدها وفى حدود تركيزات قليلة للغاية وهو يتميز بقدرة عالية أو فائقة فى تحليل مخلفات المبيدات فى وقت سريع جدا وبكفاءة عالية ومن خلال خطوات بسيطة مقارنة بما هو متبع مع الكروماتوجرافى الغازى العادى . وتمثل الخبرة الجيدة فى استعمال هذه الوسيلة المتطورة فى المقدرة على فصل المنحنيات عن بعضها . وقبل الخوض فى النظرية التى بنى عليها عمل هذا الجهاز نشير باختصار الى تركيب وتشغيل نموذج من Hplc حتى نستطيع فهم اسلوب ونظرية الجهاز .

* تركيب وتشغيل جهاز Hplc :

الرسم التالى يوضح مكونات جهاز Hplc :

خزان المذيب	وسيلة التبريد
مضخة أو المضخات	خافض العينة
	العمود
	منظم الحرارة
الكشاف أو الكشافات	مسجل البيانات
	الطابعة (المسجل)

تعتبر اجهزة Hplc غاية فى التعقيد مقارنة بالاجهزة التى يستخدم فيها العمود المفتوح بينما يمكن تسمية الكروماتوجرافى السائل الحديث بأنه كروماتوجرافيا العمود حيث من الضروري ان تكون كل المكونات التى تلامس المذيب مقاومة لنظم المذيبات المائية والعضوية المستخدمة . وكما سبق القول يتوقف اختيار الكشاف على الحساسية والمقدرة فى الكشف والتعريف . الفصل السريع والدقيق يتطلب اعمدة خاصة تتميز بالكفاءة والثبات كما يجب ان يكون سريان المذيب بمعدل ثابت ايضا .

(١) بصرف النظر عن نوع الخزان الا انه يجب ان يكون قادرا على تزويد وحدة أو وحدات الضخ بالمذيب الكافى لعمليات التقدير والكشف وبحجم كافى لا يجاز عدد من التحليلات .

(ب) تعتبر المضخة أو المضخات او نظام الضخ نفسه من اهم الاجزاء الموجودة فى اجهزة HPLC حيث تقوم المضخة بدفع الوسط المتحرك (المذيب) داخل العمود وهناك مضخات ذات حجم ثابت او ضغط ثابت او تتميز بالصفقتان (تحقق حجم وضغط ثابتين) ويفضل انواع المضخات

Automated High Pressure Gradient System
suitable for H₂O acids providing high accuracy and high sensitivity for a variety of samples.

SIL-10A/L

Auto Injector

"provides high injection volume repeatability" and low cross contamination
(*PSD value 0.3%)

CBM-10A

Communications Bus Module

"with reliable optical fiber interface for CLASS-LC workstation. The SCL-10A System Controller is available for other workstation or integrators"

SPD-10A/10AV

UV-VIS Detector

"provides an exceptionally low noise level" and simultaneous dual wavelength detection
(*noise level: $\pm 0.35 \times 10^{-4}$ AU)

Reservoir Tray

"accommodates 7 one-liter bottles"

CTO-10A/10AC

Column Oven

"provides precise" temperature control of columns, mixers and switching valves.
(temperature control precision: $\pm 0.1^\circ\text{C}$)

Option Box L

"accommodates small components and peripherals"

Sample Cooler

"keeps sample vials at low temperature"

ODU-10B

Ultrasonic Degassing Unit
"improves reliability of high sensitivity analysis"

LC-10AD

Solvent Delivery Unit

"provides low pulsation solvent delivery"

CLASS-LC10

Chromatography Workstation
"supports GLP/GMP compliance"

شكل توضيحي لمكونات جهاز HPLC

ذات المقدرة على الامداد بالطور المتحرك وسريان ثابت ولكن بمعدلات مختلفة مع اقل شوشرة Noise مع الضغط المنخفض والعالي . وهناك المضخات الدافعة للغاز ومنها ذات المكابس الملفوفة والغازية وهي تعتمد على ضغط الغاز في الدفع والنوع الملفوف يصلح لتوفير الضغط الثابت (١٥٠٠ ضغط جوى) ولكنها لا تستخدم كثيرا في التشغيل المتدرج بينما النوع الدافع للغاز يصلح في التشغيل المتدرج . هناك المضخات الدافعة للسائل حيث تستخدم في نظام الكبس الضخ الهيدروليكي لدفع السائل . يؤدى استعمال مكبسين او غشائين او اكثر الى الامداد بسريان عديم الشوشرة وهى تصلح للتشغيل المتدرج .

هناك المضخة الكابسة الميكانيكية حيث تقوم بتدق المذيب اثناء دفعة شوط المكبس السابقة وتعيد ملء غرفة المكبس اثناء دفعة شوط السحب المرتلة وعادة يتم تشغيل مكبسين أو أكثر لانقاص الشوشرة ويمكن الحصول من هذه المكابس على سريان ثابت والتشغيل على ضغوط مرتفعة والمخزن غير محدود السعة كما يمكن الحصول على التدرج باستعمال مضختان يتم التحكم فيهما الكترونيا .

هناك المضخة الخاصة وفيها يزيج المكبس الناقل للحركة المذيب من المخزن ويدفعه الى العمود وعندما يحدث الاتزان فى نظام الدفع والتدفق يحدث بثبات تحت ضغوط مرتفعة . المخزن هنا محدود السعة بالنسبة لحجم الحافتين .

(جـ) فى نظام الكروماتوجرافى السائل عالى الاداء يفضل ان يكون نظام الازاحة متدرجا gradient وهى تفيد فى تحسين كفاءة الفصل وفى حالة الخالط المعقدة التى لها قيم k (k) فى المنحنى تعنى حجم الازاحة للمركب) على درجة كبيرة من الاختلاف , تفيد الازاحة المتدرجة فى نظام الفصل بالاستبدال الايونى بسبب ان التغير فى قوة ايون الايدروجين PH الوقت تعتبر فى غاية الاهمية والفائدة .

(د) يتم حقن العينة باستعمال حقنة على ضغط مرتفع مع إيقاف تدفق المذيب وتكون نتيجة الحقن جيدة اذا وضعت العينة مباشرة فى قمة العمود . يلاحظ ان مدخل الحقن ذو ضغط عالى قد يصل الى ١٥٠٠ ضغط جوى والحاكم الموجود فى فتحة الحقن يجب الا يتأثر بالمذيب ويكون هناك توافق معه كما يجب ان يقاوم الضغوط العالية المرتدة . تمتاز طريقة استخدام الحقن كما فى الكروماتوجرافى الغازى بأنها بسيطة واقتصادية وتجيز تحميل احجام متغيرة من العينة فى نطاق ضيق على قمة العمود والمشكلة فى هذه الطريقة تتمثل فى الضغط العالى واحتمالات تفتيت الحاكم بواسطة ابرة الحقن ومن ثم تتراكم فى قمة العمود مما يؤدى الى نقص فى كفاءة العمود وانسداد مسار المذيب وزيادة كبيرة فى الضغط المرجح او المرتد .

(هـ) يمكن إيقاف تدفق المذيب فى اتجاه سريان الحقن مما يؤدى الى هبوط الضغط ومن ثم يسهل الحقن مما يزيل الضغط المرجح ويؤدى استئناف سريان المذيب الى معاودة حمل العينة فى العمود ويكون انتشار السائل بطى ولا تتأثر فعالية العمود كثيرا .

(د) كما سبق القول تعتبر اجهزة Hplc ممثلة للكروماتوجرافي العمود column ونود الإشارة الى ان معظم الاعمدة تصنع من الصلب الغير قابل للصدأ أو من زجاج خاص يتحمل الضغط العالي في حدود ٥٠٠ ضغط جوى وتختلف في الطول والقطر تبعاً لنوع مادة التعبئة وتتراوح في الطول من ١٠ - ٣٠ سم وحتى عدة امتار ومتوسط القطر الداخلى ٢,٦ ملليمتر . يمكن التحكم في درجة حرارة العمود باستعمال الافران ذات التسخين الهوائى والحمامات المائية ووحدات التسخين التى تسخن وتبرد عن طريق دوران المياه . يمكن استخدام جهاز Hplc على درجة حرارة المعمل اما درجات الحرارة العالية يمكن الاستفادة منها فى تقليل احجام الاحتجاز وتقليل سرعة سريان الخليط . ولا يمكن تجاهل اهمية منظم درجة حرارة الكشاف فى الحفاظ على ثبات النظم الاسبكتروفوتومترية .

(ز) يمكن لهذا الجهاز العمل على معظم انواع الكشافات المتاحة بدرجة تتوقف على الحساسية المطلوبة فى التحليل ومثال ذلك الكشاف اللونى الاسبكتروفوتومتري والفلوريسنس وكشافات قياس التغير فى معامل الانكسار والتأين تفيد فى حالة عدم الحاجة الى حساسية عالية . ومن اكثر الكشافات شيوعاً فى اجهزة Hplc كشافات الأشعة فوق البنفسجية uv وهناك كشافات ذات مدى موجى كبير من ١٩٠ - ٨٠٠ نانوميتر حيث يمكنها الكشف عن كميات ضئيلة للغاية من المبيدات فى حدود نانوجرامات او اجزاء منها .

(ح) يتوفر حالياً فى الاجهزة الحديثة معدات متطورة جداً للتسجيل وابراز النتائج من خلال برامج الحاسبات الالية الموجودة فى الاجهزة .

* التقدير الوصفى والكمى للمخلفات بواسطة جهاز Hplc :

تتبع نفس طرق الكروماتوجرافي الغازى فى التقدير الكمى للعينات بعد فصلها بجهاز Hplc سواء بالطرق الغير كروماتوجرافية او الكروماتوجرافية والتي تعتمد على مطابقة قيم فترة الاحتجاز (النسي) Retention time بالقيم الموجودة فى المعامل او بقيم العينات القياسية شريطة ان يتم الفصل تحت نفس ظروف التشغيل والفصل . ويمكن قياس النسبة بين درجة الاستجابة لأكثر من كشاف تختلف فى حساسيتها فى الكشف عن نفس المركب ، وحديثاً توجد اجهزة Hplc مزودة بأكثر من كشاف احدهما لقياس معامل الانكسار والاخر للامتصاص الضوئى او كشافان ذو مقدرة على الامتصاص الضوئى مختلفة . الطرق الغير كروماتوجرافية تعتمد على الجواهر الكشافة المناسبة للتفاعلات الكيميائية ويمكن الاستعانة ببعض الاجهزة المنظورة لتعريف المركبات المفصولة مثل جهاز الرنين النووى المغناطيسى Nuclear magnetic Resonance (NMR) أو جهاز قياس الكتلة Mass spectrometer (Ms) أو الأشعة تحت الحمراء IR .


يتم تحليل المنحنيات رياضياً والتقدير الكمى للمركبات بنفس الطرق التى ذكرت فى كروماتوجرافيا الغاز السائل Glc .

* تأكيد النتائج Data confirmation :

يمكن اتباع الطرق التالية لتأكيد النتائج التي تحصل عليها من الفصل الكروماتوجرافي سواء بالـ Hplc أو Glc :

- ١ - استعمال اعمدة مختلفة القطبية .
 - ٢ - استعمال كشافات متخصصة .
 - ٣ - تقييم معامل التجزئ (p-value) .
 - ٤ - التفيررات الكيميائية من خلال الاشتقاق .
- * وفيما يلي طرق حساب نتائج فصل المبيدات بواسطة جهاز الكروماتوجرافي السائل فائق القدرة Hplc .

BONDED PHASES FOR HPLC AND THEIR ABBREVIATIONS

Phase	Description	Phase	Description
SI	Silica $-\text{Si}-\text{OH}$ Classic normal phase material. Suitable for separating polar non-ionic organic compounds.	CN	CPS, PCN, Cyano, Cyanopropyl, Nitrile $-\text{Si}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$ Can be employed as either a Reversed Phase or normal phase material. Slightly polar, unique selectivity for polar compounds in both Reversed Phase and normal phase modes. Equilibrates very rapidly, suitable for gradient separations. Useful for many pharmaceutical applications (e.g. tricyclic antidepressants).
C1	TMS, SAS, Trimethyl $-\text{Si}-\text{CH}_3$ Reversed Phase material. Unique selectivity for polar and multifunctional compounds. Least retentive of all alkyl group bonded phases for non-polar solutes.	NH ₂	APS, Amino, Amino Propyl Silyl $-\text{Si}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ Can be employed as Reversed Phase, normal phase, or weak anion exchange material. Reversed Phase: useful for separating carbohydrates. Normal phase: alternative selectivity to silica, not deactivated by small amounts of water. Ion exchange: weak anion exchanger when used with buffers. Separates anions and organic acids.
C2	RP-2, Dimethyl $-\text{Si}-\text{C}_2\text{H}_5$ Reversed Phase material. Less retentive than C4, C8, or C18. More retentive than C1.	NO ₂	Nitro $-\text{Si}-\text{NO}_2$ Normal phase material. Separates aromatic compounds and compounds with double bonds.
C3	Propyl $-\text{Si}-\text{C}_3\text{H}_7$ Reversed Phase material. Used in Hydrophobic Interaction Chromatography (HIC) of proteins and peptides.	OH	Diol, Glycerol $-\text{Si}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ Can be employed as either a Reversed Phase or normal phase material. Reversed Phase: used for Gel Filtration Chromatography (GFC) of proteins and peptides. Normal phase: similar selectivity to silica, not deactivated by small amounts of water.
C4	Butyl $-\text{Si}-\text{C}_4\text{H}_9$ Reversed Phase material. Useful for ion-pairing chromatography. Offers less retention than C8 and C18 phases for non-polar solutes. When bonded to 300Å silica, it is an ideal phase for analyzing large proteins and hydrophobic peptides.	SAX	SB, Quaternary amine, Strong Base $-\text{Si}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ Ion exchange material. Strong anion exchangers (basic) are useful for separating nucleotides, nucleosides, and organic acids.
C6	Hexyl $-\text{Si}-\text{C}_6\text{H}_{13}$ Reversed Phase material. Useful for ion-pairing chromatography. Less retentive than C8 and C18 phases.	SCX	SA, Sulfonic Acid, Weak Acid $-\text{Si}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$ Ion exchange material. Strong cation exchangers (acidic) are useful for separating organic bases.
C8	MOS, RP-8, LC8, Octyl $-\text{Si}-\text{C}_8\text{H}_{17}$ Reversed Phase material. Similar selectivity to C18 but less retentive. Wide applicability (e.g. pharmaceuticals, nucleosides, steroids). When bonded to 300Å silica, it is an ideal phase for peptides, peptide mapping, and small hydrophilic proteins.	WAX	PEI, DEAE, Polyethylenimine, Diethylaminoethyl, Weak Base $-\text{Si}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ Ion exchange material. Weak anion exchangers (acidic) are most useful for analyzing acidic proteins and peptides.
C18	ODS, RP-18, LC18, Octadecyl $-\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$ Classic Reversed Phase material. Most retentive for non-polar solutes. Excellent for ion-pairing chromatography. Wide applicability (e.g. nucleosides, nucleotides, steroids, pharmaceuticals, vitamins, fatty acids, environmental compounds). When bonded to 300Å silica, this phase is perfect for separating small hydrophilic peptides.	WCX	CM, Carboxymethyl, Weak Acid $-\text{Si}-\text{CH}_2\text{COOH}$ Ion exchange material. Weak cation exchangers (basic) are most useful for analyzing basic proteins and peptides.
Phenyl, C ₆ H ₅	$-\text{Si}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$  Reversed Phase material. Unique selectivity. Useful for analyzing aromatic compounds. When bonded to 300Å silica, this phase is useful for HIC.		

HPLC THEORY AND CALCULATIONS

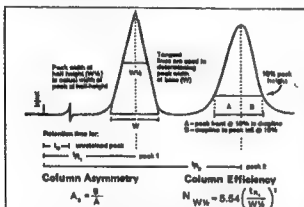
HPLC CALCULATIONS

COLUMN EFFICIENCY: In general, N = Number of Theoretical Plates, a is a constant depending on method used, t_r = retention time of peak, and W = the peak width at a given peak height.

$$N = \left(\frac{t_r}{W} \right)^2$$

Method	N
Peak Width $1/2$ Peak Height	5.54
Peak Width at 4.4% Peak Height (5 σ method)	25
Tangent	16

The peak width at $1/2$ height is the most commonly used method for calculating HPLC column efficiency.



PEAK ASYMMETRY: $A_s = B/A$ at 10% peak height.

CAPACITY FACTORS (RELATIVE RETENTION): The Capacity Factor, k' , of a sample component is a measure of the degree to which that component is retained by the column relative to an unretained component.

$$k' = (t_r - t_0)/t_0$$

Where t_r is the elution time of retained component, and t_0 is the elution time of the unretained sample.

SELECTIVITY: (α): $\alpha = k'/k''$

RESOLUTION: R_s , defined as the amount of separation between two adjacent peaks, is given by

$$R_s = (1/4) (\alpha - 1) (N)^{1/2} (k'/1 + k'')$$

where k' is the average value for the two peaks.

ADJUSTING FLOW RATE FOR DIFFERENT COLUMN IDS: When scaling up from analytical to preparative modes or when scaling down from analytical to microbore LC, it is often desirable to keep retention times constant. The flow rate can be adjusted so that the columns operate at the same linear velocity. When switching from a column with a radius (0.5 I.D.) of r_1 to another with a radius of r_2 , the flow rate must be altered by a factor of X , where

$$X = (r_2/r_1)^2$$

0.008

For example, when scaling up from a 250 x 4.6mm column to a 250 x 10mm I.D. column, the flow rate must be increased by a factor of 4.73 in the 10mm column to generate the same linear velocity as that of the 4.6mm I.D. column, as derived below:

$$X = (5.0/2.3)^2 = 4.73$$

The general formula which will convert flow rate from any given column dimension to any other is as follows:

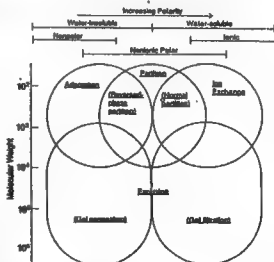
$$F_2 = F_1 \cdot (L_2/L_1) \cdot (r_2/r_1)^2$$

Where: L = length of the column, in mm
 r = radius of the column, in mm
 F = flow rate, in ml/min
 1 designates the first, or reference, column
 2 designates the second column

EFFECT OF DIFFERENT CONDITIONS ON SAMPLE RETENTION

Change in Separation	Effect on Retention Time	Run Time	Band Spacing
Flow rate, F	$1/F$	$1/F$	None
Column volume, V_m	V_m	V_m	None
Increase in vol.-% strong solvent	None	Decreases	Small change
New strong solvent	None	Changes	Changes
pH value	None	Changes	Changes
Column packing (e.g., cyano vs C18)	Little	Changes	Changes
Increase temperature	None	Decrease	Small change
New mobile phase additives	None	Changes	Changes

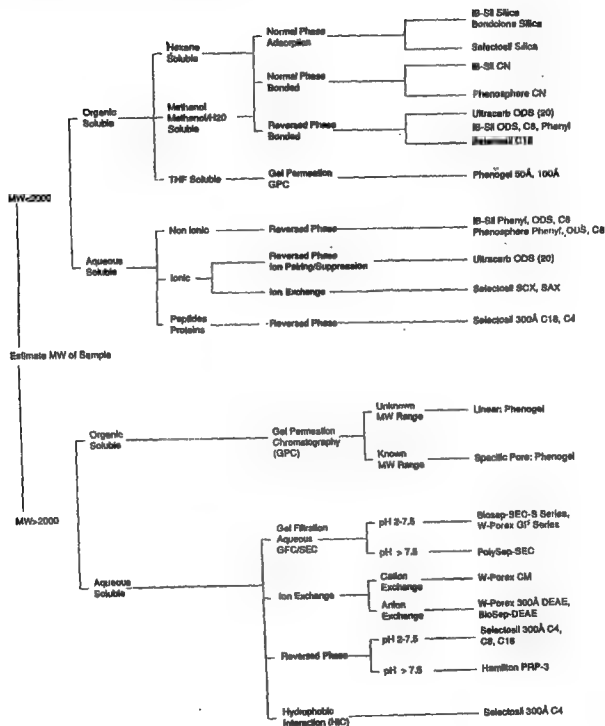
APPLICATIONS OF LIQUID CHROMATOGRAPHY



(From O.L. Saunders, in Chromatography, 3rd ed., E. Hahnemann, Ed., p. 81, Van Nostrand Reinhold, New York, 1978. With permission.)

COLUMN SELECTION GUIDE

Rules of Thumb



0.005

0.005

الفصل الخامس عشر

— النظائر المشعة والكشف عن المبيدات والكيميائيات الأخرى :

- * مقدمة .
- * أنواع النشاط الإشعاعي .
- * اضمحلال الإشعاع .
- * وحدات النشاط الإشعاعي .
- * وحدة التعرض الإشعاعي .
- * حساب الجرعة الإشعاعية .
- بعض الاصطلاحات الأساسية في مجال تقدير المبيدات المشعة .

- * جسيمات ألفا (α)
- * جسيمات بيتا (β)
- * الأنود Anode والكاثود Cathode .
- * زن العداد والعد .
- * العنصر الحامل .
- * الخلفية .
- * تشتت الإشعاع .
- * الاضمحلال .
- * الكوري curie وحدة الإشعاع .
- * التحطم النووي .
- * معدل التحطم أو الاضمحلال .
- * كفاءة جهاز العد أو العداد .
- * معيار النهاية العظمى للطاقة .
- * عداد الغاز .
- * عداد انسياب الغاز .
- * نصف العمر البيولوجي .
- * نصف عمر النشاط الإشعاعي .
- * النظير Isotope
- * شعاع جاما (γ) Gamma ray

- * التحليل بتخفيف النظير المشع .
- * اصطلاح Mev .
- * الكشف عن النشاط الاشعاعى Monitoring .
- * النشاط النوعى Specific activity .
- * الاشعاع Radiation .
- * النشاط الاشعاعى Radio activity .
- * كيمياء المواد المشعة Radio chemistry .
- * المنتج النشط اشعاعيا Parent radio active product .
- * جرعة التعرض رونتجنون Roentgen (r) .
- * راديو اوتوجراف Radio autograph .
- * راديو جراف Radiograph .
- * Gy .
- * Quanching in counting tube الاخمداد فى انبوبة العد .
- * Self absorption الامتصاص الذاتى .
- * Median lethal dose التأثير البيولوجى النسبى .
- * الجرعة الوسيطة القاتلة (MLD)
- * الفترة القاتلة الوسيطة (MLT) Median lethal time
- التشيع واستخدام المواد المشعة .
- شروط انشاء معمل كيمياء مواد مشعة .
- تخزين المواد المشعة Storage .
- طرق اختيار المركبات المشعة .
- امان المبيدات المشعة safety .
- الكشف والقياس للنشاط الاشعاعى .
- ١ - عداد جايجر مولر Geiger-Muller counter
- ٢ - غرف التأين Ionization chambers
- ٣ - عداد الحالة الغازية Gas phase counter
- ٤ - عداد الغمر Immersion counter
- ٥ - عداد السائل Liquid scintillation
- ٦ - القياس الذاتى للاشعاع Auto radiography
- ٧ - كشف الاشعاع على شرائح الكروماتوجرافى الورقى .

** النظائر المشعة والكشف عن المبيدات والكيميائيات الأخرى :

* مقدمة :

الذرات التي لها نفس العدد الذري ولنفس العنصر ولكنها تختلف في الكتلة تعرف بالنظائر .
النظائر المشعة أو الانوية المشعة التي تبعث بصفة مستمرة وتلقائية أنواع معينة من الاشعاع تفيد
كثيرا فى التحليل البيوكيميائى وفى تتبع مسار المواد الكيميائية بما فيها المبيدات داخل اجسام
الكائنات الحية والتربة والنباتات وغيرها .

تتكون الانوية الذرية من البروتونات والنيوترونات ويحدد عدد البروتونات العدد الذرى ومن ثم
يمكن من خلاله تعريف العنصر وهو يكون مساويا لعدد الالكترونات المدارية وهو الشئ الضرورى
لتحقيق تعادل الذرة . الكتلة الذرية للنواة تنسب الى النيوترونات الاضافية .

العدد الذرى = عدد البروتونات

الكتلة الذرية = مجموع عدد البروتونات والنيوترونات .

جدول (١) : الخواص الطبيعية لبعض النظائر المشعة المستخدمة .

Element	Symbol	Half-life	Beta emission	Gamma emission
Calcium	⁴⁵ Ca	165 d	+	---
Carbon	¹⁴ C	5760 a	+	---
Chlorine	³⁶ Cl	3 10 ⁵ a	+	---
Cobalt	⁶⁰ Co	5.20 a	+	+
Hydrogen	³ H	12.2 a	+	-
Iodine	¹²⁵ I	60 d	Electron capture	+
Iodine	¹³¹ I	8.04 d	+	+
Iron	⁵⁹ Fe	45 d	+	+
Magnesium	²⁸ Mg	21.4 h	+	+
Nitrogen	¹³ N	600 s	Positron	+
Phosphorus	³² P	14.3 d	+	-
Potassium	⁴⁰ K	10 ⁹ a	Electron capture	+
Potassium	⁴² K	12.4 h	+	+
Sodium	²² Na	2.6 a	Positron	+
Sodium	²⁴ Na	15 h	+	+
Sulphur	³⁵ S	82.2 d	+	-

عادة يوضع على الرمز رقمان السفلى يمثل العدد الذرى والعلى يمثل الكتلة الذرية ومثال ذلك $^{14}_6\text{C}$ وعمليا يحذف الرقم الدال على العدد الذرى (6) وبذلك يكون التعبير المشع الخاص بذرة الكربون $^{14}_\text{C}$ أو فى حالة الفوسفور $^{32}_\text{P}$ وللتسهيل نقول كربون - ١٤ أو فوسفور - ٣٢ ... الخ . ولقد قصدت ان اكتب الرمز بالانجليزية حتى يتعود عليها القارئ والباحث .

يتوقف ثبات النواة الذرية على التوازن المخرج بين قوى الترابط والتجاذب بين البروتونات والنيوترونات فى حالة العناصر الخفيفة تكون النسبة بين النيوترونات والبروتونات (N : P) = ١ : ١ وهذا ضرورى حتى يتحقق الثبات للنواة ولكن زيادة الكتلة الذرية ترفع قيمة ثبات النواة ١,٥ : ١ . ففى حالة النواة التى بها اختلاف معنى فى نسبة N : P عن هذه القيم تميل الى الدخول فى تفاعلات نووية حتى نحافظ على النسبة ومن ثم يقال على العنصر انه نظير مشع Isotope . لذلك فان الحجم الاقصى الذى بعده تكون اى نواة غير ثابتة وان جميع العناصر ذات الاعداد الذرية الاعلى من ٨٢ تكون مشعة

النواع النشاط الاشعاعى :

اذا كانت النواة شديدة الثقل ورقمها الذرى يتعدى ٨٢ فانها قد تتحول الى ذرة اكثر ثباتا من خلال اعادة الترتيب عن طريق انفراد كل البروتونات والنيوترونات . وهذا يتأثر بانبعثات جسيم الفا الذى يحتوى على ٢ بروتون و ٢ نيوترون ونواة الهيليوم ^4_2He . وجسيمات الفا كبيرة وتنبعث مع عدد محدود من مستويات الطاقة وهى ذات مدى قصير حتى فى الهواء ولا تسبب سوى اضرار ضئيلة جدا ولكنها ذات تأثيرات خطيرة داخل الخلايا الحية أو الانسجة .

* الأنوية التى بها زيادة من النيوترونات تنقل النيوترون الى البروتون وهذه العملية قد تحافظ على نسبة (N : P) ولكنها تحتاج لفقد الالكترون لتحويل النيوترون الى بروتون مشحون بشحنة موجبة (+) . ومن ثم يزيد العدد الذرى بمقدار (١) . الجسيمات التى ستنبعث ذات الكترون عالى السرعة يعرف بالنيجatron (B) . ويقال عن الذرة انها تبعث اشعاع بيتا .

* الانوية التى تحتوى على زيادة من البروتونات تنقل البروتون للنيوترون مع انفراد جسيم بيتا المشحون (+) . والذى يطلق عليه البوزيترون (B^+) مع اختزال العدد الذرى بمقدار (١) . وهو يتواجد لفترة قصيرة جدا ولكنه سرعان ما يتحد مع الكترون الذرة المجاورة .

* بالرغم من أن الانوية التى بها نسبة (N : P) فى المدى الشابت يظل من الممكن ان توجد فى حالة طاقة غير ثابتة وتبعث طاقة على صورة بروتونات للاشعاع المغناطيسى ذات أطوال موجية قصيرة جدا تعرف باشعة جاما وهى بدون كتلة أو شحنة ومن ثم لا تسبب تأثيرات أيونية مباشرة ولكن الطاقة المرتبطة بها تمتص بواسطة الذرة مسببة طرد الكترون يحدث تأثيرات ثانوية أيونية .

Decay : اضمحلل الاشعاع **

عملية عشوائية حيث يكون المعدل الذى عنده تضمحل كمية من النظير تتناسب طردياً مع عدد الذرات الغير ثابتة الموجودة فى العينة . العلاقة بين النشاط الاشعاعى للمادة مع الوقت غير خطية لذلك لا يمكن حساب نصف فترة الحياة ومن لسم وجب تطبيق معادلات رياضية حتى تكون العلاقة على صورة خط مستقيم .. ومن ثم يمكن حساب معدل اضمحلل النشاط

$$\text{Loge} = \frac{N_t}{N_0} = Lt$$

* N_t النشاط عند الوقت

* N_0 النشاط فى البداية .

* L ثابت اضمحلل النشاط الاشعاعى .

* t الوقت .

فى العلاقة الخطية المستقيمة تطبق المعادلة وتحسب معدل الاضمحلل

$$\text{Loge } N_t = \log N_0 - Lt$$

ومن التحويل من اللوغاريتم العادى تصبح

$$\text{Log } t_0 N_t = \text{Log } t_0 N_0 - 0.4343 Lt$$

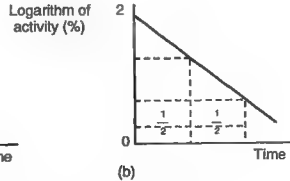
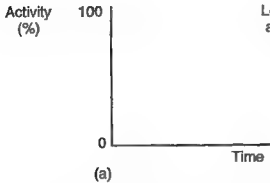
الانحدار للخط المستقيم = - 0.4343 L

إذا كانت N_t مساوية لنصف N_0 فان t تصبح مساوية لنصف فترة الحياة ($t_{1/2}$) وبذلك

$$\text{Log } t_0 1 = \text{Log } t_0 2 - 0.4343 Lt$$

تصبح المعادلة :

$$t_{1/2} = \frac{0.3010}{0.4343 L}$$



شكل (١) : اضمحلل الإشعاع وهو يتناسب طردياً مع عدد الذرات الغير ثابتة الموجودة

* * وحدات النشاط الاشعاعى

الوحدة الاساسية للنشاط الاشعاعى هى الكورى Curie وهى تعتمد على نشاط واحد جرام من الراديوم النقى ٢٢٦٠ والذى بما يعادل تحطم 3.7×10^{10} ذرة فى الثانية . ومن ثم يعرف الكورى على انه كمية النظير المشع الذى تغطى 3.7×10^{10} ذرة تحطم فى الثانية أو هى قدرة الاشعاع المعادلة لواحد جرام راديوم وهناك الملييكورى = $1000/1$ من الكورى .

$$\frac{1}{\text{مليون}} = \text{الميكروكورى من الكورى}$$

والوحدة الجديدة الدولية للنشاط الاشعاعى هى البيكريل bequerel والمعادلة التالية توضح العلاقة بينها وبين الكورى :

$$\text{واحد كورى} = 3.7 \times 10^{10} \text{ بيكريل}$$

وتنسب البيكريل للجرام وتختصر (Bq) أو ملييكورى لكل جرام mcig . العينة التى فيها جميع ذرات عنصر معين مشعة يقال عنها خالية من الحمل Carrier Free وهذه يصعب جدا التعامل معها من الناحية العملية .

* * وحدة التعرض الاشعاعى

الرونتجن (r) Roentgen وهى تعبر عن وحدة كمية الاشعة مقدرة طبيعيا على اساس الايونات السالبة والموجبة التى تتكون فى 0.001293 جم من الهواء / وهذا الوزن من الهواء اذا حدث به تأين يكفى لحمل وحدة كهربائية استاتيكية كما ان الرونتجن يعادل طاقة ممتصة فى الهواء تعادل 83.8 ارج/جم . أى ان الرونتجن يعتبر وحدة قياس التعرض الاشعاعى من اشعة اكس أو جاما التى تؤين جزيئات الهواء . والرونتجن = 2.5 ملليكولوم /كيلوجرام .

* توجد وحدة قديمة تسمى ريب rep وهى اختصار المكافئ الطبيعى للرونتجن Roentgen equivalent physical وهى تعبر عن طاقة مقدارها 93 ارج/جم من النسيج اللين كما سبق القول .

* هناك ما يسمى وحدة الجرعة الممتصة Radiation absorbed dose ويطلق عليها الراد rad وهى تمثل وحدة كمية الاشعاع الممتصة وتساوى 100 ارج/جم وهى لا تعتمد على نوع الوسط الممتص ولكنها تعتمد على ما تركه من طاقة ممتصة فى هذا الوسط . الجراى = 100 راد

$$\frac{1 \text{ جول}}{\text{كجم}} =$$

* هناك ما يعرف بوحدة الجرعة المكافئة equivalent dose أو الريم Reem وهي كمية الطاقة الاشعاعية التي تحدث تأثيرا بيولوجيا يعادل التأثير البيولوجي لواحد راد

$$\frac{\text{جول}}{\text{كيلو جرام}} = 100 \text{ ريم}$$

* هناك ما يعرف بالتأثير البيولوجي النسبي Relative biological effects وهو يعنى كمية الطاقة الاشعاعية التي تنتج تأثيرا بيولوجيا متساوى .

$$\text{الجرعة بالريم} = \text{الجرعة بالراد} \times \text{التأثير البيولوجي النسبي}$$

يختلف معامل التأثير البيولوجي النسبي حيث يساوى واحد لاشعة اكس وجاما . ويساوى ١٠ فى حالة النيوترونات السريعة والبروتونات اما النويات الثقيلة المرتدة كجسيمات الفا يساوى ٢٠ ويطلق عليه معامل النوع Q. F. للاشعاع ويستخدم لتقدير الجرعة الاشعاعية .

* * حساب الجرعة الاشعاعية :

اولا : العلاقة بين النشاط الاشعاعي ومعدل التعرض لاشعة جاما :

$$\text{معدل التعرض (رونتجن) ساعة} = \frac{1}{4} \text{ ميج م ط على بعد متر لكل كيورى .}$$

حيث :

مج : مجموع .

م : مقدار اضمحلال التحول الاشعاعي .

ط : طاقة الفوتون من اشعة جاما .

ثانيا : الجرعة المكافئة :

$$\text{الجرعة المكافئة} = \frac{\text{كمية الطاقة الممتصة بالخلايا او العضو البيولوجي (ريم)}}{\text{وحدة الكتلة بالجرام}}$$

ويقصد بها متوسط ما يمتص فى الجسم او اى عضو منه وتتوقف على نوع المصدر المشع حيث يدخل فيها معامل التصحيح (التأثير البيولوجي النسبي) .

ثالثا : الجرعة الممتصة :

$$\text{الجرعة الممتصة} = \frac{\text{مجموع الطاقات الممتصة (راد)}}{\text{وزن جسم الانسان كله بالكيلوجرام}}$$

حساب الجرعة الاشعاعية التعرضية :

الجرعة الإشعاعية التعرضية من أى مصدر إشعاعى يمكن ان تحدد على بعد معين اذا عرفت بالنسبة لمكان اخر فى الهواء أو الفراغ طبقا لقانون التربيع العكسى حيث :

$$D2 = D1 \frac{d1^2}{d2^2} \text{ (رونجن)}$$

حيث D1 : هى الجرعة التعرضية على مسافة d1 من المصدر المشع .

حيث D2 : هى الجرعة التعرضية على مسافة d2 من المصدر المشع .

بمعرفة جرعة التعرض على بعد ١ متر من المصدر يمكن تحديد المكان المناسب لتقليل الجرعة الاشعاعية للوقوف عندها اثناء العمل بالمواد المشعة ذات المستوى الاشعاعى المرتفع .

* بعض الاصطلاحات الاساسية فى مجال تقدير المبيدات المشعة :

فى هذا المجال يجب الاشارة بالزميل العزيز أ . د. عبد السلام قصوة : استاذ كيمياء المبيدات ورئيس قسم وقاية النبات بكلية الزراعة جامعة عين شمس ، حيث كان من الأوائل الذين عملوا على هذه المبيدات المشعة فى الولايات المتحدة الامريكية خلال دراسته لدرجة الدكتوراه والتي تناولت سلوك بعض المبيدات فى الحبوب المخزونة ، ومنذ ان عاد لارض الوطن بحمد الله اضطلع بمسؤولية تدريس هذا الجزء لطلاب مرحلة البكالوريوس شعبة المبيدات والحشرات وكذلك طلاب الدراسات العليا . وللأسف الشديد لم نستطيع حتى كتابة هذه السطور العمل فى هذا الاتجاه بالكلية اللهم الا دراسات عن اثر الاشعاع على سلوك بعض الحشرات بالتعاون مع الزملاء فى وكالة الطاقة الذرية للمصرية .

لقد آثرت قبل الكلام عن امان المواد المشعة والمبيدات المشعة ان اجعل القارئ على دراية ببعض الاصطلاحات الشائعة فى هذا المجال حتى لو حدث تكرار فهو لا يضر .

* جسيمات الفا α :

وهى جسيمات تنبعث من نظائر مشعة قليلة الثبات مثل الـ 147 Promethium ويتكون من اثنين بروتون واثنين نيوترون وهو يماثل نواة الهيليوم وله قوة اختراق منخفضة كما ذكر فى بداية الموضوع .

* جسيمات بيتا B :

للمجسيم كتلة او شحنة مساوية لتلك الخاصة بالإلكترون وتنبعث الجسيمات (B) من نظائر مشعة كثيرة مثل ^{14}C وتترقف قوة اختراقها على طاقتها التى تعتمد بالتالى على مصدرها وهى عادة منخفضة .

* الأنود Anode والكاثود Cathode :

الأنود هو القطب الكهربى الموجب الذى تنجذب اليه الأيونات ذات الشحنة السالبة اما الكاثود فهو القطب الكهربى السالب الذى تنجذب اليه الأيونات ذات الشحنة الموجبة .

* العداد والعد Counter & Count :

جهاز قياس الاشعاع مزود بعدد او مقياس به مؤشر يشير الى العدد الكلى للمدلولات ووقائع التأين خلال فترة محددة .

* العنصر الحامل Carrier :

كمية من العنصر مخلوطة مع النظائر المشعة لهذا العنصر وهى كمية يمكن قياسها وتسهل العمليات الكيميائية وهى على غرار المركب القياسى الداخلى Internal Standard التى تضاف لعينات المبيد عند العمل بجهاز الكروماتوجرافى الغازى .

* اخلفية Background :

تمثل العد المشاهد على وحدة القياس (العداد) بدون وجود عينة مشعة . تنشأ الخلفية عن اشعاع خارجى خلاف اشعاع العينة المشعة او قد تنتج من تلوث أنبوبة العداد وهى تماثل الخلفية التى يحدثها المذيب عند حقن العينة المذابة فى الكروماتوجرافى الغازى .

* تشتت الاشعاع Back Scattering :

يعنى انحراف الاشعاع بزوايا اكبر من ٩٠° بالنسبة لاتجاه حركة الاشعاع الاصلية . وتحديد هذا الحدوث يتطلب خبرة ومعرفة من القائم بعملية الكشف واستخدام النظائر المشعة .

* الاضمحلال Decay :

يعنى التناقص فى عدد الذرات المشعة فى العينة بمرور الوقت بسبب التحول التلقائى الذى يحدث لها وهى تختلف من ذرة لأخرى وقد سبق تعريفها بالتفصيل مع توضيح اهميتها .

* الكورى Curie وحدة الاشعاع :

تعنى كمية من الاشعاع يرمز لها بالحرف Ci تساوى ٣,٧ × ١٠^{١٠} ذرة تتحطم/ثانية أو ٢,٢٢ × ١٢^{١٠} ذرة تتحطم/دقيقة أى تساوى تقريبا نشاط جرام واحد من الراديوم .

الملييكورى = ١٠٠٠/١ من الكورى

الميكروكورى = ١٠٠٠/١ من الملييكورى

* التحطيم النووي Nuclear disintegration :

هو تحول نووى تلقائى يتميز بانبعث طاقة من النواة وهو اساس وحدات الكورى ومرادفاتها .

* معدل التحطيم او الاضمحلال :

يعنى معدل الاضمحلال الذى يحدث فى مادة مشعة ويعبر عنه بالكمية التى تتحطم فى وحدة الزمن .

* كفاءة جهاز العد أو العداد :

معيار للتأكد من مقدرة العداد على الاستجابة وتسجيل قيمة الاشعاع عند دخوله الى الكشاف Detector . وهذا يؤكد ضرورة قيام الباحث بملاحظة اية تغيرات فى وحدة القياس الاشعاعى حتى يتجنب اية استنتاجات مضللة او خاطئة من جراء عدم كفاءة العداد بسبب اى عطل او عدم اتمام المعايرة الجيدة .

* معيار النهاية العظمى للطاقة Maximum energy (Emax) :

* عداد الغاز :

عبارة عن وحدة لقياس الاشعاع فى عينة مجهزة على صورة غازية وهو يوضع داخل انبوبة العداد الاصلى .

* عداد انسياب الغاز :

وحدة لعد الاشعاع يتوفر داخل الأنبوبة الخاص بها الجرم الملائم من خلال امرار تيار بطىء من غاز مناسب داخل الانبوب .

* نصف العمر البيولوجى :

تعنى الوقت الذى يستغرقه الكائن الحى المعامل بالاشعاع للتخلص من نصف الكمية التى ادخلت اليه ويتم ذلك من خلال العمليات الحيوية المختلفة فى عضو أو نسيج أو أكثر بشرط ألا تكون الكمية التى تعرض لها ذات تأثير حاد قاتل .

* نصف عمر النشاط الاشعاعى :

هو الوقت اللازم مروره من وقت المعاملة بكمية معينة من الاشعاع وحتى اضمحلال نصف الكمية الاولى او الابتدائية وهى تتوقف على العديد من العوامل الداخلية والخارجية .

* النظير Isotope :

احد النويات nuclides العديدة التى لها نفس العدد من البروتونات فى النواة وهى بذلك تنتمى لنفس العنصر ولكنها تختلف فى عدد النيوترونات وللتوضيح نقول ان النويدات عبارة عن ذرة ذات تركيب خاص متميز فى النواة ومن لم تكون نظائرها نفس العنصر عبارة عن نويدات متميزة .

* شعاع جاما

كما سبق القول فان شعاع جاما γ عبارة عن كم (كوانتم) من الاشعاع حيث ينبعث كل فوتون الذى يمثل الطاقة الضوئية نتيجة انتقال كمى بين مستويين للطاقة فى النواة . ولأشعة جاما طاقات تقع بين 10 Mev (مليون الكترون فولت) و 10 Kev مع ما يقابل ذلك من موجات ذات اطوال قصيرة جدا وذبذبات عالية وقدرة على الاختراق العميق نسبيا مثال ذلك (I_{131}) .

* التحليل بتخفيف النظير المشع

تضاف كمية معلومة من المادة المشعة المعروف نشاطها الاشعاعى النوى Specific activity الى مخلوط يحتوى على هذه المادة بصورة غير مشعة ثم تعزل عينة نقية من المادة وتكن مبيد أو أى مادة كيميائية أخرى ويقاس النشاط النوعى مرة أخرى كما فى المثال التوضيحي التالى :

$$WA = WA^* \left(\frac{CA^*}{C_{mix}} - 1 \right) = 1mg \left(\frac{100}{200} - 1 \right) = 4 mg$$

$WA =$ وزن المادة فى المخلوط (مجهول)

$WA^* =$ وزن المادة النقية للمشعة المضافة .

$CA^* =$ النشاط الإشعاعى النوعى لوزنة معلومة من المادة النقية المشعة .

$C_{mix} =$ النشاط الإشعاعى النوعى لوزنة معلومة من المادة النقية المشعة + المادة النقية غير المشعة .

* اصطلاح Mev :

عبارة عن وحدة من الطاقة تستخدم فى العادة مع اشعاع الفا وبيتا وكذلك اشعة اكس والنسبة لأى اشعاع منها يشير الـ Mev العالى الى قدرة اختراق عالية .

* الكشف عن النشاط الاشعاعى Monitoring :

يعنى استكشاف وجود النشاط الاشعاعى بصفة دورية منتظمة أو متواصلة وهو يشمل تقدير كمية اشعاع التأين أو التلوث بمواد مشعة فى منطقة تواجد المصانع المعنية أو القاطمين بالعمل فى المفاعلات الذرية وغيرها وهذه تقع ضمن الاجراءات الأمنية بهدف حماية صحة الانسان . وهى تجرى كعمل روتينى فى الدول الصناعية الكبرى .

* النشاط النوعى

تمثل الكمية الكلية للنشاط الاشعاعى لأحد النظائر فى جرام من النظير المشع وعادة يعبر عنها (dps/mg) .

* الاشعاع Radiation :

يعنى انبعاث ونشر الطاقة فى الفضاء او فى اى وسط مادى فى صورة موجات كما يحدث فى حالة انبعاث ونشر الموجات الكهرومغناطيسية .

* النشاط الاشعاعى Radio activity :

يعنى ظاهرة التحول التلقائى لنويدية ذات عمر يمكن قياسه (أو تعبير عن شدة الاشعاع المنبعث من عينة تمر بتحول نووى تلقائى ...).

* كيمياء المواد المشعة Radio chemistry :

احد فروع علم الكيمياء ويختص بدراسة عناصر المواد المشعة والنظائر الخاصة بها وهى تفيد فى دراسات سلوك المبيدات فى الانظمة الحيوية المختلفة كالثباتات والحيوانات الخ .

* المنتج النشاط اشعاعيا Parent radio active product :

نظير مشع ناتج عن تحلل decay نظير مشع اخر (الاصل) .

* جرعة التعرض رونتجن (r) Roentgen :

تعبر عن جرعة التعرض لأشعة اكس أو جاما ويصنع الرونتجن الواحد ٨٣,٨ ارج من الطاقة فى جرام واحد من الهواء الجاف تحت ظروف قياسية .

توجد وحدة قديمة تسمى rep وهى باختصار للتعبير Roentgen equivalent

وهى تعنى وضع طاقة قدرها ٩٣ ارج فى جرام من نسيج لين . وهناك وحدة اخرى شائعة الاستخدام هى rad اختصارا Radiation absorbed dose وهى تعنى كمية الاشعاع التى تصنع ١٠٠ ارج لكل جرام من اى مادة (*) .

* راديو أوتوجراف Radioautograph :

عند ملاصقة المواد المشعة لفيلم او لوحة فوتوغرافية لفترة معينة تتكون بقع سوداء وهى تعرف بالمسجل الفوتوغرافى .

* راديو جراف Radiograph :

صورة ظلية A shadow picture ناتجة من مرور اشعة اكس او اشعة جاما خلال هدف معين وتسجل الاختلافات فى كثافة الاشعة المنبعثة على فيلم حساس او فوتوغرافى مناسب (يطلق على

العلم الذى يتناول دراسة الراديوجراف او الراديوجرام radiology والمضمون الشامل لهذا العلم يشمل دراسة النشاط الاشعاعى واشعة اكس والاشعة الكونية .

* جى : Gy

تعبر عن جرعة التعرض لأشعة جاما وهى تساوى ١٠٠ راد .

١ كجم راد = ١٠ جى (Gy)

* Quenching in counting tube : الاخمداد فى انبوبة العد

عملية تثبيط التفريغ المستمر او المتعدد الشحنات الكهربائية فى انبوبة العد التى تستخدم التكبير الغازى . وهذا ينطبق على امتصاص ومضات الضوء (الوميض الفوسفورى) اثناء عملية قياس وميض السائل المشع .

* Self absorption : الامتصاص الذاتى

يعنى امتصاص الاشعاع الصادر من ذرات مشعة بواسطة الوسط المحتوى على هذه الذرات .

* التأثير البيولوجى النسبى :

يعنى كمية الطاقة الاشعاعية التى تنتج تأثيرا بيولوجيا متساوى الجرعة بالرسم = الجرعة بالراد \times التأثير البيولوجى النسبى . التأثير البيولوجى النسبى = واحد لأشعة اكس وجاما بينما يساوى ١٠ للبروتونات اما جسيمات الفا فيساوى ٢٠ .

* Median lethal dose (MLD) : الجرعة الوسطية القاتلة

هى جرعة الاشعاع اللازمة لقتل ٥٠ ٪ من افراد الحيوانات او الكائنات الحية التى تعرضت لها خلال فترة معينة .

* Median lethal time (MLT) : الفترة القاتلة الوسطية

هى الفترة اللازم مرورها حتى يموت ٥٠ ٪ من الكائنات الحية او الحيوانات التى تعرضت لجرعة محددة من الاشعاع .

ولقد ائرت ان اضبع بين يدي القارئ الكريم اهم المصطلحات الخاصة بالاشعاع والنشاط الاشعاعي باللغة الانجليزية حتى المنجب سوء الفهم أو سوء الترجمة .

TERMS USED FOR RADIATION AND RADIOACTIVITY

Alpha (α) particle. A particle emitted from a few radioisotopes - e.g., promethium¹⁴⁷. It consists of two protons and two neutrons and is identical with the helium nucleus. It has extremely low penetrating power.

Beta (β) particle. A particle emitted from numerous radioisotopes - e.g., C¹⁴. It is an electron. Its penetrating power depends on its energy (which in turn depends on its source) and is usually low.

Curie (c). A quantity of radioactivity, measured by the number of disintegrations in a given time. One curie produces 2.22×10^{12} disintegrations per minute.

Gamma (γ) ray. An electromagnetic radiation emitted from certain radioisotopes - e.g., I¹³¹. A relatively deeply penetrating emanation.

Kilovolt (kvp). The crest value of the electrical potential wave in a cathode ray tube used to generate x-rays.

Millicurie (mc). One thousandth of a curie.

Million electron volts (Mev). A unit of energy commonly applied to α, β, γ, and x radiations. For any given radiation, high Mev implies high penetration.

Rad. See "roentgen."

Rep. See "roentgen."

Roentgen (r). An exposure dose of x or γ rays. One roentgen will deposit 83.8 ergs of energy in 1 g of dry air at standard conditions. As essentially equivalent unit, though now historical, is the rep. "roentgen equivalent physical", which is an energy deposition φ of 93 ergs in 1 g of soft tissue. Another unit, applied to all radiation is the rad. "radiation absorbed dose." The rad. by definition, is the amount of radiation which will deposit 100 ergs per gram in any material.

* * التشعيع واستخدام المواد المشعة Labeling and isotope methods :

يعبر عن نتائج الدراسات التي استخدمت فيها المواد المشعة بوحدات قياس العد في الدقيقة أو وحدات التحطم الاشعاعي في الدقيقة . disintegration per minute وقد سبق الإشارة الى كل منها وتوضع هذه الوحدات دون تفصيلات حتى يمكن للباحث أو المهتم بهذه الدراسات من تحويلها الى الوحدات المألوفة في المبيدات والآثار الجانبية لها مثال جزء في المليون ppm . في هذا المقام نود الإشارة الى ان هناك مستويات ثلاثة للنشاط الاشعاعي جرى العرف على تحديدها على اساس ان المواد ذات النشاط الاشعاعي اقل من وحتى ١٠ مللييكوري تمثل المستوى المنخفض low . ومن ١٠ - ١٠٠ مللييكوري تمثل المستوى المتوسط intermediate والعالي ينحصر بين ١٠٠ - ٥٠٠ مللييكوري .

* ليكون معلوما ان معظم دراسات سلوك المبيدات في المكونات البيئية المختلفة خاصة الحشرات والفئران والنباتات تستخدم كميات من المواد المشعة في حدود ١ - ١٠ مللييكوري كما ان النظائر المشعة التي تستخدم في بحوث المبيدات تكون من النوع الذي يصدر جسيمات بيتا مثل H^3 و C^{14} و CL^{36} و P^{32} الخ . وهناك مواد مشعة تصدر اشعة بيتا ذات طاقة منخفضة مثل CL^{36} و S^{35} و C^{14} وهذه يمكن تداولها بأمان نسبي معقول باستخدام صندوق مزود بكفوف وادوات زجاجية عادية . اما في حالة استخدام مواد مشعة تصدر اشعة بيتا ذات طاقة عالية مثل P^{32} يجب استخدام ساتر بلاستيك يحيط بجهاز التجربة ذات سمك من ٠,٥ - ١ بوصة .

* في هذا المقام سأتناول كيفية تشعيع احد المبيدات الفوسفورية حتى يمكن دراسة سلوكه في الحشرات وغيرها من الكائنات الحية . لكل باحث طريقته التي يفضلها في تحضير وتخليق المبيد المشع بالرغم من ان الاساس واحد بسبب ان الفوسفور P^{32} ذو نصف فترة حياة قصيرة (١٤ يوم) ومن ثم يعتبر تخزينه مستحيلا لذلك كانت تكاليف تجهيز المبيد الفوسفوري المشع عالية جدا . وعلى الجانب الآخر يحتاج الباحث الى كميات صغيرة جدا للدراسة حتى لا تقتل الحشرة وتستمر الدراسة . ففي حالة مركب الدايمثوات -- على سبيل المثال -- الذي له جرعة متوسطة قاتلة ٠,٤ ملليجرام/ كجم يحتاج الباحث الى ٢ ميكروجرام مبيد لكل ٥ جم ذباب واذا كان الهدف من الدراسة تتبع المبيد في الانسجة المختلفة يمكن استخدام كميات اقل بكثير .

* بدأ تجهيز المبيدات الفوسفورية المشعة بالفوسفور P^{32} باستخدام الفوسفور الاحمر كمادة بداية حيث كانت الانشطة النسبية منخفضة ولذلك كانت دراسة سلوك المركب داخل الحشرة بهذا التحضير مستحيلة في الحشرات . في عام ١٩٥٨ قام العالم الكبير Casida بوصف طريقة على درجة عالية من الكفاءة وفيها تم تسخين مركب P_2S_5 مع المركب الرخيص ذو النشاط العالي $H_3P^{32}O_4$ فيحدث تبادل . وفي عام ١٩٥٨ كذلك قام الباحثان Uige and Tabeau

باجراء تفاعل تبادلئ بين SCL_3 والمركبات المرتبطة به مع $H_3P^{32}O_4$. ولقد ادت هذه التفاعلات الى الحصول على مركبات ذات نشاط اشعاعى نسبى عالى وفى الغالب تعطى ٢٠,٠٠٠ وحدة/دقيقة لكل ميكروجرام باستخدام جهاز جيغر (عداد Geiger counter) ذات الكفاءة ١٥٪. ولقد مكنت هذه الطرق من تسهيل اجراء دراسات تتبع سلوك المبيدات داخل الحشرة .

حديثا اصبح استخدام المبيدات الفوسفورية المشعة بالتظير C^{14} مثار اهتمام الباحث ولكن بسبب دوام هذه التحضير حتى ٥٥٠٠ سنة اى مدة طويلة للغاية يكون من المستحيل الحصول على أنشطة اشعاعية نسبية عالية . ان نشاط واحد مول من المادة الحاملة للكربون ١٤ أو الفوسفور ٣٢ تتناسب عكسيا مع نصف فترة الحياة لذلك يمكن القول أن P^{32} ذات نشاط اشعاعى نسبى يعادل ١٤٢,٠٠٠ مرة اعلى مما فى الكربون المشع C^{14} ولكن دوام كفاءة مستحضرات الكربون المشع تعتبر مناسبة كثيراً كما درست عمليات تمثيل مركب د د ف بى C^{14} عام ١٩٦٢ بواسطة العالمان Hodgson and Casida .

* لقد واكب نجاح تخضير المركبات الفوسفورية المشعة ادخال نظم قياس للاشعاع مناسبة وأمنة حيث يعتبر استخدام التريتيوم tritium الأمان والنشاط والتكلفة الاقتصادية . ولقد قدرت تكلفة التريتيوم فى H_2O_3 ١٤ سنت / ملليكورى فى مقابل ١,١ دولار امريكى مع $H_3P^{32}O_4$ أو ١٥ دولار امريكى لمركب $BaC^{14}O_3$ (وهذه تعتبر من ارخص البادئات فى هذا السبيل) . يعتبر التريتيوم ذو امان عالى جدا بسبب الضعف الشديد لأشعة بيتا المنبعثة وسرعة دخوله فى الجسم ويمكن لكمية واحد ميكروجرام فى البارالين المشع تعطى $٣,٧ \times ١٠^6$ عدة/دقيقة فى العداد ذو الكفاءة ١٥٪ مع نصف فترة حياة ١٢,٥ سنة وهى فترة مناسبة الطول .

* فى عام ١٩٦٢ وصفت طريقة لتشجيع المركبات الفوسفورية بسهولة كبيرة وقلة فى التكاليف حيث استخدم H_2O_3 مع P_2O_5 والب BF_3 حيث يتم خلط هذه المكونات مع المركب المطلوب تشجيعه لمدة ٦ ساعات على درجة حرارة الغرفة . يحدث تبادل لللايدروجين فى الكربون العطرى . وفى هذه الطريقة يقل معدل الانهيار عما يحدث فى طريقة Wilzbach حيث يستخدم التعريض لمادة حاملة خالية من التريتيوم والتي لا يمكن عملها فى المعامل العادية .

* لكى تكتمل الصورة امام القارئ نقول انه توجد طرق عديدة لتخليق المواد المشعة ومنها :

التخليق الكيميائى المباشر

التخليق بتبادل النظائر .

التخليق بطريقة معاودة الانصاف

التخليق فى الحزم الجزيئية والايونية .

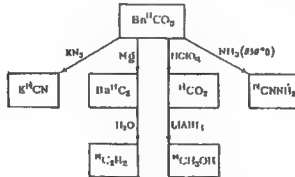
التخليق عن طريق تحطيم اشعة بيتا

التخليق الحيوى

* ومن أكثر الطرق شيوعا فى الصناعة التخليق الكيميائى المباشر والتخليق الحيوى وتبادل النظائر . تخليق المواد المشعة له ملامحه الخاصة ولا تصلح اى مادة كبدلية ولكن المادة هى نفسها التى تنتج عند اتباع النظر المطلوب ادخاله فى المركب . كميات المواد التى تستعمل فى التخليق صغيرة ومن ثم تكون كمية النظير المشع الذى يدخل فى التفاعل محدودة كما ان التخفيف بمادة غير نشطة يلاقى اعتراضات بسبب نقص النشاط النوعى لنواتج التفاعل . عند التخليق يجب ان يؤخذ فى الحسبان امكانية حدوث تحلل وانتهيار للاشعاع فى المادة لدرجة قد تصل لاقول من محتواها الاصلى من الاشعاع . يجب ان تكون خطوات التحضير قصيرة بقدر الامكان كما يجب ان تجرى تحت ظروف تحقق الامان النسبى واذا امكن اجراء تجارب على البارد يكون افضل بدلا من تناول المواد المشعة .

* ان تسمية المواد المشعة تعطى معلومات عن النظير الذى ادخل فى الجزئ وموقعه فيه . حامض الفوسفوريك الذى شمع بالفوسفور المشع P^{32} يسمى P^{32} phosphoric acid ويكتب رمزه البنائى $H_3P^{32}O_4$ ويوضع عدد الكتلة للذرة للملحمة فى قمة الجانب الايسر للرمز . اذا كان الجزئ يحتوى على اكثر من ذرة متماثلة يعكس اسم المركب ورمزه البنائى مكان التشعيع ومثال ذلك حامض البرونيتيك $CH_3C^{14}H_2COOH$ وهكذا .

* المادة البادئة لتشعيع المركبات العضوية (المبيدات وغيرها) فى الموضع C^{14} هى كربونات الباريوم $Ba^{14}CO_3$ ومنها نحصل على خمسة مركبات اساسية تعتبر مفاتيح لتحضير المركبات العضوية كما فى الرسم التالى :



رسم تخطيطى لتخليق المركبات الملحمة بالكربون 14 .

* المادة البادئة لتشعيع المركبات العضوية فى الكبريت ٣٥ هى الكبريت العنصرى أو حمض الكبريتيك المحتوى على S^{32} حيث يتحول حمض الكبريتيك S^{32} الى كبريتات الباريوم S^{32} والتى تختزل الى كبريتيد الباريوم S^{32} ومنه نحصل على الثيوريا S^{32} كما فى الشكل التالى :

* قد يتساءل البعض عن التخليق الحيوي biosynthesis للمركبات العضوية المشعة ونقل ان العديد من هذه المركبات المعقدة تنتج خلال التخليق الحيوي للمواد المشعة أصلا وهي تعتمد على تحول المواد المشعة الى مركبات طبيعية ومثال ذلك ما يحدث في النباتات المعرضة للهواء به ثاني اكسيد كربون مشع حيث تقوم بتخليق الاحماض الامينية والكربوهيدرات المشعة في ذرة الكربون ^{14}C . وتستخدم هذه الطرق حاليا في الحصول على الاحماض الامينية المشعة بواسطة طحلب الكوريلا او بنجر السكر . ينتج فيتامين B_{12} المشع بالكوبالت ^{58}Co بمساعدة سلالة بكتريا حمض البروبيونيك في المحلول المغذى المحتوى على الكوبالت المشع . التخليق الحيوي يعطى تشعيع متجانس على جميع ذرات العنصر المطلوب تشعيه وهذا من العيوب الكبيرة ولكنه يتبع لانتاج مركبات ذات نشاط اشعاعى عالى . التخليق الحيوي للمركبات المحتوية على ذرات كربون غير متجانس يؤدى الى الحصول على الصورة L بينما التخليق الكيميائي المباشر يعطى مخلوط راسمى .

* هناك تخليق مركبات مشعة فى التريتيوم Labeled وهو ينتج من تشعيع الليثيوم بالنيوترونات .

* يمكن الحصول على مركبات عضوية مشعة فى أكثر من موضع واحد على نفس الجزيء وهي تفيد فى دراسة سلوك المركب فى الاوساط البيئية المختلفة وهي تصلح فى حالة ما اذا كان محتوى النظير المشع فى المواد المشعة لا يقل عن ٥٠ - ١٠ %.

* * شروط انشاء معمل كيمياء مواد مشعة :

* عند انشاء معمل كيمياء المواد المشعة يجب العمل منذ البداية على ضرورة تحقيق الامان لجميع العاملين فى المعمل وحمايتهم من الاشعاع وذلك من خلال التصميمات الهندسية المناسبة والدقيقة دون نسيان أى من العوامل المؤثرة وكذلك توفير وسائل الحماية من الاشعاع الذى قد يتسرب عرضيا وتوفير وسائل الانذار المبكر والا كانت العواقب وخيمة . ولا بد ان تختار نوعيات خاصة من العاملين يمتازوا بالجدية والاهتمام بالموضوعات والاخلاص الحميدة علاوة على المستوى العلمى المميز وعليهم ان يتلقوا دورات تدريبية بصفة منتظمة عن اخطار التعرض للاشعاع ، وكيفية وسبل الوقاية والحماية والعلاج .

* يجب ان يؤخذ فى الحسبان نوعان من الاشعاع عند انشاء معمل كيمياء المواد المشعة الأول الاشعاع الخارجى ولا سبيل لتقليل الضرر سوى تقليل فرص واحتمالات التعرض له حتى المستوى المسموح به وتقادى التعرض الزائد . والثانى يشمل الاشعاع الداخلى حيث يمكن السيطرة عليه من خلال ترسيخ مفاهيم وأسس التدريب الجيد على العمل وحسن النظام والالتزام بقواعد الأمان عند تداول المواد المشعة بطرق تمنع دخولها للجسم عن طريق البلع أو الاستنشاق أو أية وسائل أو منافذ أخرى . لكى يمكن توفير الوقاية من أخطار الاشعاع يجب اتباع

التعليمات التالية :

- ١ - تحديد وتوصيف نوعية وكمية المواد المشعة المستعملة .
- ٢ - تحديد وضبط المسافة بين القائم بالعمل ومصدر الاشعاع بحيث تتفادى وصول اية كميات قد تحدث ضرراً .
- ٣ - تحديد مدة التعرض التي لا يحدث معها أية أخطار .
- ٤ - ضرورة الكشف المستمر عن مستويات الاشعاع في المعمل وكذلك في القائمين بالعمل من خلال الاختبارات القياسية المتعارف عليها بشرط ان يقوم بهذا العمل أناس متخصصون .
- ٥ - التعامل مع المواد المشعة في حيز محطود أى في صناديق محكمة الغلق مزودة بقفازات خاصة منعا لتعرض الجلد .
- ٦ - التعامل مع المواد المشعة بواسطة أدوات خاصة للتداول تجعل فرصة تناثرها او سقوطها في مكان التداول ضعيلة للغاية بل مستحيلة ضمانا للأمان .
- ٧ - نشر الخلايا الحساسة للكشف عن المواد المشعة وتحذير العاملون في المعمل عن احتمالات التسرب قبلها بوقت كاف .
- ٨ - ضرورة توفير وسائل الاسعافات الأولية السريعة والمناسبة ولا تترك العملية للصدفه او الاحتمالات .
- ٩ - توفير وسائل التخلص من المواد المشعة بأسلوب مدروس بحيث تضمن عدم تسرب هذه النفايات مرة اخرى من المعمل الى اماكن اخرى والدورات الارشادية ذات اهمية خاصة في هذا المجال حيث ممنوع تماما لقاء هذه النفايات في البالوعات او الأحواض او المصارف الصحية أو الزراعية او في الأرض البور ... بل يجب معالجتها قبل خروجها من المعمل او جمعها في أواني خاصة عليها جميع التحذيرات وإرسالها الى المعامل الخاصة بالمعالجة وتخليصها من المواد المشعة . اذا كانت المواد المشعة اقل من واحد ملليكورى يجب اتخاذ الاحتياطات صارمة في هذا الشأن .
- ١٠ - يجب التقليل لحد كبير من احتمال بلع المواد المشعة من خلال العمل تحت ظروف مناسبة وخزانات غازات جيدة التهوية مع استخدام القفازات واقنعة الوجه وتغطية الجسم بالملابس الواقية والأرجل لمنع تعرض اى جزء من اجزاء الجسم لهذه المواد المشعة او المشععة .

**** تخزين المواد المشعة**

بادئ ذي بدء نقرر انه اذا لم يكن هناك داع للتخزين ولا ضرورة لذلك لا تخزن ولكن هناك فترة من وصول المواد المشعة للمعمل وحتى العمل بها تدخل تحت مسمى التخزين ونفس الشيء بالنسبة للنفايات وفى هذه الحالة يجهر وعاء رخيص على شكل اسطوانة مغطاة بالرصاص لمنع تسرب الاشعاع لتخزين المركبات المملعة بالفوسفور المشع P^{32} اما المواد المشعة المحتوية على الكلور ^{36}Cl أو الهيليوم H^3 أو الكربون ^{14}C يمكن تخزينها فى اوعية خاصة زجاجية داخل صناديق بلاستيك . بالنسبة للمحاليل ذات النشاط الاشعاعى الواسع يمكن تخزينها فى انابيب طرد مركزى مدرجة ووضع الانابيب فى حامل من الصلب الذى لا يصدأ له قاعدة من الرصاص لتقليل فرصة واحتمال انقلاب الحامل اثناء اخذ كميات من المحاليل بالماصة . لابد من تخزين اوعية الرصاص والحامل فى الثلاثة أو فى الصندوق المبطن بالرصاص مع مراعاة ثبات المركبات المشعة .

* عند تصدير عينة من المادة المشعة تتخذ احتياطات عالية الصرامة والدقة منعا لحدوث اى تسرب حيث توضع فى عبوة زجاجية محكمة الغلق وتوضع هذه العبوة فى صفيحة مملوءة بمادة السوبرسيل الماصة لأية مواد تتسرب بسبب قدرتها الامصاصية العالية أو مادة الفيرميكيوليت وكلاهما يحمى العينة من الانقلاب وذات مقدرة على ادمصاص المواد المشعة فى حالة عسر العبوة الزجاجية . ولسنا فى مجال القول ان العينة المشحونة تكون مصحوبة بشهادات بها جميع التفاصيل عن المادة المشعة والمصدر واجراءات الأمان .

**** طرق اختيار المركبات المشعة :**

من مميزات استخدام المركبات المشعة فى دراسات السلوك البيئى أن المادة المشعة لا تتأثر بالمادة الموجودة فيها من حيث اللون أو الحالة والصفات الطبيعية وكذلك المكونات الكيميائية والتي قد تتداخل مع طرق التقدير الاخرى كاللونية والكروماتوجرافية الغازية مما يستلزم اجراء عمليات التنظيف للعينات المحتوية عليها ومن ثم يقل معدل استرجاع المركبات من المادة المحتوية عليه وهذا غير وارد عند العمل بتكنيك الإشعاع بالإضافة الى الحساسية العالية جدا لهذه الطريقة والتي تصل الى اجزاء من البليون او اقل كثيرا .

* تقدم النظائر المشعة فى صورة مركبات كيميائية غير عضوية حيث تستخدم فى تجهيز المركبات العضوية المشعة والنظائر المشعة يجب الحصول عليها من مصدر موثوق ومعترف به دوليا ولكي يطمئن القارئ نقول ان مصادر هذه المواد الخطرة محدودة للغاية وان كان الوضع الحالى غير معروف بعد تفكك الاتحاد السوفيتى والدول الاشتراكية وحدثت حالات تسرب لا يعلم منها الا الله سبحانه وتعالى لهذه المواد المشعة ووصولها الى دول لا تعى خطورتها . ومع هذا يظل المعمل القومى الأمريكى ووكالة الطاقة الذرية من الهيئات المتخصصة الموثوق فيها .

* هناك العديد من العوامل التي يجب ان تؤخذ في الاعتبار عند اختيار النظير المشع وتحديد موضعه في الجزيء تحت الدراسة .. ومثال ذلك :

- ١ - التركيب الكيميائي للمركب .
- ٢ - سهولة الحصول على النظير المشع .
- ٣ - تكلفة النظير المشع .
- ٤ - نصف عمر النظير المشع .
- ٥ - سهولة قياس الاشعاع .
- ٦ - النشاط النوعي اللازم لاجراء التجربة .

لكي يتم اختيار النظير المشع المناسب يجب معرفة خواص اهم النظائر الشائعة الاستعمال والتي على اساسها نختار ما يناسب الدراسة المطلوب اجراؤها :

نظير المشع	نوع الاشعة	نصف فترة الحياة
Bromine - 82	أشعة بيتا وجاما	٣٥,٩ يوم
Carbon - 14	اشعة بيتا هادئة	٥,٥٧ × ١٠ ^٣ سنة
Chlorine - 36	اشعة بيتا هادئة	٢,٠٨ × ١٠ ^{١٠} سنة
Hydrogen - 3	اشعة بيتا	١٢,٤٦ سنة
Iodine - 131	اشعة جاما	٨,٠٤ يوم
Phosphorus - 32	أشعة بيتا شديدة	١٤,٣ يوم
Sulfur - 35	أشعة بيتا هادئة	٨٧,١ يوم

* يعتبر الكربون المشع لك ١٤ النظير الاكثر شيوعا واستعمالا في مجال دراسة سلوك المبيدات وتتبع آثاره فيما يعرف باقتفاء الأثر tracer experiment بسبب كونه اساس جميع المواد العضوية كما انه يحقق جميع الشروط السابق الإشارة إليها من سهولة الحصول عليه وتجهيزه ونصف فترة حياته المناسبة وسهولة الكشف عنه وتخزينه ... الخ . وهناك كثير من المعامل تفضل استخدام التريتيوم ³H بسبب رخص التكلفة وسهولة ادخاله في المركبات المراد تعليمها ودراسة سلوكها وكذلك الامان النسبي للتداول والتقدم الهائل الذي حدث في اجهزة العد والكشف عن المواد المشعة .

* عند ادخال نظير مشع في المبيد وهو ما يعرف بالتعليم او Labeling لا بد من الاكمام بمدى صلاحية موضع الذرة المشعة في الجزيء بما يتماشى مع هدف الدراسة . ونود التأكيد على حقيقة هامة تتمثل في ان وجود الاشعاع في النسيج او الوسط لا يعنى وجود المركب الكامل

ولكنه يعنى وجود الجزء المشع وهذا هام فى دراسة التمثيل او التحول للمركب وتحديد الجزء الفعال فى الجزئ والمسئول عن احداث الفعل السام Action على المكان او المستقبل المعين Receptor أو Site of action . لذلك كان لابد من اجراء اختبارات تأكيدية لتحديد المركب الموجود وهل هو ناتج تأكسدى او تحلل مائى او غيره من التحولات الكيميائية الحيوية او اللاحيوية ومن هذه الاختبارات التأكيدية استخلزم كروماتوجرافى الألواح الرقيقة .

* من هذا المفهوم يجب إختبار الموضع أو الذرة المراد تعليمها بالاشعاع بحيث لا تهاجم بسهولة أو تفقد بسبب التحولات الحيوية أو البيوكيميائية فى الوسط . ولا بجانبنا الصواب اذا قلنا انه يمكن تشعيع معظم المجموعات الدالة فى الجزئ . ولقد اتفق على وضع الكربون المشع فى السلسلة الكربونية الاساسية او فى الحلقة العطرية من الجزئ بالرغم من صعوبة التحضير .

* بالرغم من التطور الكبير فى اجهزة القياس والعد والكشف عن الاشعاع فان كميات المبيد يجب الا تقل عن ١ ، ٠ جزء فى المليون ومعظم الاجهزة تستطيع قياس اشعة قدره واحد ملليكورى/ملليمول واقل من ذلك يتحدد بحجم العينة وللتغلب على مشكلة التكلفة العالية للمركبات المشعة يفضل تخضير مواد مشعة رخيصة مثل الكربون المشع فى حامض البنزويك او فى خلاصات الصوديوم .

امان المبيدات المشعة

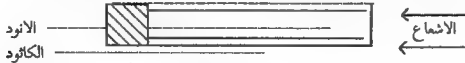
بعد هذا الاستعراض أصبح القارئ مهيباً للحدث عن الأمان النسبى الموجود فى المبيدات المشعة وهنا نقول أنه يجب العناية الفائقة عن تداول المواد المشعة ليس فقط تلك التى لها قدرة ابعثات اشعاعى قوية بل والضعيفة كذلك خاصة اذا كانت ذات نصف فترة حياة طويلة مثل التريتيوم والكربون - ١٤ . والتى يمكن أن تدخل فى الجسم وبعد فترة طويلة قد تسبب أضراراً خطيرة . وهناك العديد من القواعد والتعليمات الى تتناول وتهتم بتداول والتخلص من النظائر المشعة وجميعها يجب فهمها جيداً والعمل بها . جميع الارفف فى المعامل يجب ان تغطى بمادة عازلة للماء حتى لا يحدث امتصاص للمواد المشعة فى الأخشاب المصنوعة منها كما يجب تغيير هذه الرفوف بصورة منتظمة . على كل من يتداول هذه المواد المشعة ان يرتدى الملابس الواقية والقفازات التى تستعمل مرة واحدة . يجب نزع جميع الاواني والادوات الزجاجية الملوثة فى أوعية خاصة قبل الغسيل وينصح فى العادة باستخدام أوعية يتخلص منها بما فيها من اثار بعد الغسيل

الكشف والقياس للنشاط الاشعاعي

يمكن الكشف عن الاشعاع بطرق مختلفة جميعها تعتمد على التأثيرات المباشرة أو غير المباشرة للتأين . والثلاثة طرق الأكثر شيوعا تتمثل في تأين الغازات ionization وإثارة السائل او المواد الصلبة Excitation وتخفيف التغير الكيميائي induction . يمكن قياس الاشعاع من خلال عد الانبعاثات الفردية في وحدة الزمن (القياسات المتباينة differential) أو التأثير المتراكم الكلى Cumulative لانبعثات في زمن معين (integral) . بالنسبة للقياس الكمي للاشعاع يشيع الاعتماد على الطريقة الأولى بينما الثانية تستخدم في قياسات dosimetry والراديوجرافى الذاتى Auto-radiography . بصرف النظر عن طريقة القياس والتسجيل للاشعاع يجب توفر اساس للعد او المقارنة أو خط الاساس blank وهي واجبة الاجراء ولا بد من تصحيح قيم الانبعاثات على أساس هذه القيمة التى لا تمت للعينة المراد قياس الإشعاع فيها بصلة .. وفيما يلى وصف مختصر لأهم الاجهزة :

١٥ - عداد جايجر موللر Geiger - Muller Counter :

يمكن تقدير التأثير الايونى للاشعاع على الغاز اذا استخدم فرق الجهد عبر الكترودين موجودين في الغاز . وهذا سيؤدى الى التجاذب الايونات المفصلة من التأين الى الأنود ومن ثم ينساب التيار بين الالكترودين من اكثر الكاشفات شيوعا ، في هذا النوع من الاشعاع انبوبة أو عداد جايجر - موللر والذي يتكون من غرفة اسطوانية معدنية (نحاس) هي الكاثود مع غطاء من الزجاج به سلك من التنجستين يمثل الأنود يمر على المحور المركزى للكاثود ويشبت فى نهاية الغرفة الاسطوانية بسداة ممزولة وتغطي النهاية الاخرى بغطاء من الميكا الرقيقة (الشكل - ١) .



شكل (١) : انبوب جايجر - موللر .. تملأ الأنبوبة بمخلوط من غاز متأين مثل النيون او الارجون والفلت المستخدم عبر الالكترودات . تأين الغاز بواسطة الاشعاع يحدث تيارا ينساب بين الالكترودات .

عادة يملأ الأنبوب بالغاز وهو غالبا مخلوط من النيون والارجون تحت ضغط منخفض نسبيا . اذا كان الغاز احادى او ثنائى اللرة يطلق على العداد غير ذاتى الاخمداد Nonself guenching اما اذا كان الغاز مكون على الاقل من ٤ ذرات يطلق على العداد ذاتى الاخمداد Self guenching . اذا ملئت الاسطوانة بغاز غير ذاتى الاخمداد مثل الهيليوم او الارجون فان النبض يكون ممتدا Prolonged أى يكون تفريغ الشحنات متصلا وتحت هذه الظروف لا يمكن عد العينة المشعة بطريقة مرضية ، اما اذا أضفنا الى الاسطوانة غاز ذاتى الاخمداد مثل

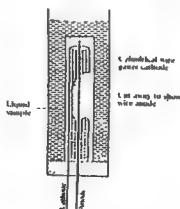
الايذويوتان فإنه يتأين ويكون طبقة رقيقة تغطي الكاثود وتوقف استمرارية تفريغ الشحنة (يضاف بنسبة ١,٣ ٪ مع الهيليوم) وكتيجة لفعل الاخمد qutnching يمكن تسجيل كل حالة تأين كنض فولت منفرد . يتوقف حجم نض الفولت على فولت التشغيل في اسطوانة العداد .

* يحدد فولت التشغيل المناسب بواسطة الشركة المنتجة للجهاز ومع هذا يجب التأكد منه وقياسه . في البداية لا تسجل نبضات مع زيادة الفولت عن الصفر ولكن عندما يحدث فرق جهد مناسب potential يبدأ ارتفاع العد مع زيادة الفولت وتسمى هذه المنطقة بمنطقة التناسب proportional ويطلق على العداد الذى يعمل على هذه الظروف بالعداد التناسبي وعندما يزيد الفولت عن هذا الحد تظهر منطقة جديدة حيث يبقى معدل العد ثابتا نسبيا ومستقلا عن فولت التشغيل وهذه يطلق عليها منطقة عمل عداد جايجر - مولر . بعد منطقة جايجر - مولر يبدأ تفريغ الشحنات بصورة متصلة discharge في اسطوانة العداد . ولا يحدث تغير في العد الا بنسبة مئوية ضئيلة جدا مع زيادة الفولت لعدة مئات من المرات .

* قد تتأثر انبوبة أو اسطوانة العداد مع كثرة الاستعمال لذلك يجب اختبار البلاتو مع كثرة الاستعمال وعلى فترات منتظمة وينصح بعدم رفع فولت التشغيل الى منطقة التفريغ المتصل للشحنات حتى ولو فترة قصيرة حيث يقلل ذلك من عمر صلاحية العداد بدرجة كبيرة وقد يؤدي ذلك الى فقد العداد لقيمته وكفاءته .

* كما سبق القول أنه من احد مشاكل عداد جايجر - مولر أنه بمجرد الاطفاء تسبب الاشعة فوق البنفسجية المتباعدة تأين زائد للغازات (الالة الذاتية) ولذلك وجب اخمادها من خلال اضافة هالوجين مثل البرومين في مخلوط الغاز خلال التصنيع . يقوم البرومين بامتصاص الطاقة الزائدة ومن ثم تفصل الى ذراتها وهذه ترتبط مرة اخرى عند عدم تشغيل الجهاز وتشغل النظام مرة اخرى وهكذا .

* هناك عداد أو كشاف السوائل liquid detector (شكل ٢ - ٢) شائع في عداد جايجر مولر ويصمم على اساس ان يغوص في السائل او يحوى على سائل كما في الشكل التالي :



شكل (٢) : انبوب جايجر - مولر لقياس نشاط العينات السائلة .

* ٢ - غرف التأين

جهاز متخصص محدود الاستعمال فى بحوث دراسات سلوك المبيدات فى الحيوانات او غيرها من الاوساط الحيوية بسبب الصعوبات فى القياس والعدد المحدود من العينات الى يمكن قياسها فى نفس اليوم . فى التجارب البيولوجية تستخدم غرفة التأين اساسا لتقدير ثاين اكسيد الكربون المشع الناتج من تنفس الحيوانات التى غليت على مركبات مشعة أو نتيجة احتراق انسجة محتوية على مركبات بها كربون مشع (ك١٤) .

تتكون من غلاف اسطوانى موصل بتوسطه قطب كهربي (الكثود) معزول . وعندما يتعرض غاز الغرفة الى اشعاع يسبب تأين وينتج عن ذلك أزواج من الايونات حيث تتحرك الايونات السالبة منها للقطب الموجب (الأنود) والموجبة ناحية القطب السالب (الكاثود) وبذلك ينشأ عن حركة الجسيمات المشحونة تيارا يمكن قياسه مباشرة او بعد تكبيره . قد يحدث تفرغ تلقائى للشحنات الخاصة بالايونات المتكونة فى غرفة الغاز نتيجة اتحاد الايونات ولو أنه من الناحية العملية لا يحدث الاتحاد بدرجة مؤثرة اذا توفر فرق جهد مقداره ١٠ فولت / سم على الاقل . ويقدر التيار فى غرفة الغاز عندئذ بعدد الايونات المتكونة فى الحجم الحساس من الغاز خلال وحدة الوقت .

* ٣ - عداد الحالة الغازية

استخدمت طريقة العد فى الحالة الغازية على نطاق واسع فى الدراسات البيولوجية باستعمال التريتيوم بسبب الحساسية العالية للطريقة وسهولة حرق المادة العضوية وتحويلها الى ثاين اكسيد الكربون وماء (وسهولة توليد غاز عد من الماء) والطريقة الاخرى الوحيدة المناسبة لعد المركبات المحتوية على التريتيوم هى تلك التى يستعمل فيها وميض السائل scintillation أو غرفة التأين .

* فى هذه الطريقة يتم ادخال المادة المشعة الى العداد كجزء متكامل مع غاز العد وهنا يكون الفقد فى الاشعاع بسبب الادمصاص مستبعدا حيث تقترب كفاءة العد من ١٠٠ ٪ . يمكن استعمال هذا العداد بكفاءة فى حالة الكربون المشع ك١٤ أو التريتيوم H^3 . يتكون العداد من انبوبة بيركس محوية على كاثود اسطوانى وأنود من سلك رفيع والانبوبة مزودة بمحس خاص يمر من خلاله الغاز المحتوى على المادة المشعة . بسبب وجود الشواك ورداءة ك١٤ كغاز للعد يخلط بغازات اخرى مناسبة معه مثل الميثان أو ثاين كبريتيد الكربون أو يتحواله الى استيثيلين يد ك = ك يد . يمكن عد التريتيوم اما على الصورة الغازية أو بعد تحويله الى تريتويدهد وكربون مثل الميثان أو البيوتان العادى .

* هذه الطريقة والعداد قريب جدا من عداد جليجير - مولر .

* ٤ - عداد الغمر

يعتبر هذا العداد مناسب لقياس والكشف عن المواد المشعة المنتجة لجسيمات بيتا ذات الطاقة العالية مثل الفوسفور ٣٢ والصوديوم ٢٤ واليوتاسيوم ٤٢ لأن سمك زجاج العداد مناسب (لا يقل

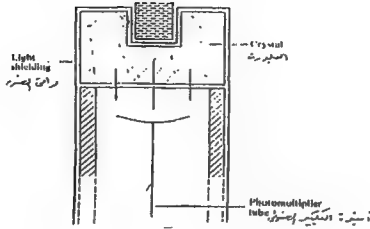
عن ٢٠ مللجم /سم^٢ مما يجعل استعماله مناسباً وقاصراً على هذه الأشعة عالية الطاقة) من أهم مميزات هذا العداد أنه يمكنه الكشف عن الإشعاع مباشرة في العينات البيولوجية المعروسة لذلك تتفادى خطوات إعداد العينة وهي مفتحة ويمكن من حفظ العينات دون تغير فيها ومن ثم يمكن إجراء مزيد من الدراسات عليها .

• هناك نوعان من عداد النمر ... الأول يسمى بالعداد الغامر Dip Counter وهو عبارة عن عداد جايجر - مولر ولكن له أنبوبة رقيقة الجدران والعداد يشمر مباشرة في العينة السائلة من خلال الأنبوب بشرط ألا يقل سمك الطبقة المحيطة بأنبوب العداد عن ٢ - ٣ ملليمتر .
والنوع الثاني يسمى عداد الانسياب المستمر للسائل liquid flow وهو يتكون من أنبوبة جايجر - مولر مركبة بصفة دائمة داخل أنبوبة زجاجية مغلقة لها يوجد بها فتحتان الأولى لاستقبال السائل والاخرى لخروجه . قد يملأ السائل المراد قياسه في الأنبوبة من خلال ماصة أو يمكن قياسه بطريقة متصلة إذا كان السائل متدفقا من العمود ويمر في الأنبوبة مباشرة لقياسه .

• • - عداد وميض السائل

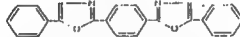
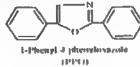
بعض المواد المعروفة بالفلورز Flours أو منتجات الوميض Scintillants تستجيب للتأثيرات الأيونية لجسيمات ألفا أو بيتا من خلال انبعاث ومضات ضوئية (وميض Scintillations) بينما لا تستجيب هذه المواد مباشرة لأشعة جاما ولكنها تستجيب للتأثيرات الأيونية الثانوية التي تنتجها إشعة جاما ومن ثم تقدم نظام للكشف لجميع الوميضات . هناك مدى واسع من المواد المنتجة للوميض بعضها صمم لأحداث كفاءة قصوى مع نظائر مشعة خاصة . بللورات ابوديد الصوديوم تحتوي على كميات صغيرة من thulious iodide ذات كفاءة عالية للكشف عن اشعة جاما والجهزة التي تعمل على هذا الأساس تسمى كاشفات او عدادات جاما Counter - ٧ . توضع البللورة على قمة مكبر ضوئي Photomultiplier الذي يمكنه الكشف عن الوميضات الضوئية وكلاهما يغطي بمادة ماصة للضوء والتي تكون رقيقة بدرجة كافية للسماح لأشعة جاما بالمرور في البللورة كما في الشكل التالي . عندما توضع العينة على البللورة فان نبضات التيار الناتجة بواسطة المكبر الضوئي يمكن عددها كهربياً .

اشعة بيتا الضعيفة او جسيمات ألفا غالباً لا تستطيع النفاذ من المادة المغلفة للبللورة ولكن استعمال مواد منتجة للوميض مع العينة المراد الكشف عن محتواها الاشعاعي مناسبة في ملئب عضوى مناسب يمكن من استخدام هذه الطريقة .



شكل (٣) : عداد جاما . الومضات المنبعثة من البلورة والمتسبب عن اشعة جاما يقاس بواسطة المكبر الضوئي .

* يعتمد عد وميض السائل المحتوي على مواد منتجة لجسيمات بيتا واطية الطاقة على قدرة بعض المواد العضوية مثل PPO أو POPOP على بحث فوتونات عند انثارها بالأشعاع . تقوم لمبة المكبر الضوئي بكشف الفوتونات (الضوء) الناتجة واستخدام التأثير الكهربى الناتج من الضوء لاعطاء نبض او إشارة كهربية يمكن تكبيرها وتسجيلها . فى هذه الطريقة تذاب العينة فى سائل عضوى معين او نظام عضوى بحيث يكون المحلول الناتج شفافا . وتحت هذه الظروف فان الفوتونات الناتجة من اثاره جسيمات بيتا للسائل العضوى لا تمتص فى الوسط ومن ثم يمكن الحصول على



شكل (٤) : المواد المنتجة للوميض Scintillants

اقصى تأثير كهربى ناتج عن ضوء الفوتونات . يمكن خفض كمية الخلفية المرتفعة والناشئة عن الضجيج الناتج عن مكبر الضوء بوضع لمبات مكبر الضوء فى غرفة منخفضة الحرارة فتقل الومضات الحرارية الايونية Thermoionic واستعمال زوج من لمبات مكبر الضوء فى توافق .

* من اهم المشاكل اذابة العينة فى محلول السائل العضوى حيث ان معظم محاليل الوميض تحتوي على تركيزات كبيرة من المذيبات الغير قطبية مما يحد من كمية المحلول المائى الذى يمكن ضخه اليها . ويمكن القول أن معظم النظم من السوائل العضوية حساسة بصفة عامة للأحماض والقواعد وبعض المحاليل الملونة خاصة اللون الاحمر والاصفر كما ان معظم العينات البيولوجية ذات محتوى عالى من الماء وفى حالات كثيرة تحتوي على كاربوتينات وصبغات الدم مما يسبب تداخلا فى عملية العد . واذا تم حرق العينة وتحويلها الى ثانى اكسيد الكربون والماء تقابلنا مشكلة مسك ثانى اكسيد الكربون المشع فى الوسط السائل الذى يمكن عده .

* تذاب معظم العينات المنتجة للمريض في المذيبات العضوية المناسبة مثل التولوين والزيلين (في حالة العينات العضوية) بينما يستخلم الديوكسين في حالة العينات المائية . يقاس عدد الايونات او الومضات الكترونيا ويمر عنها بعدد الومضات في الدقيقة . وهناك أجهزة تسمح بقياس احد النظائر المشعة في وجود نظير اخر تحت ظروف معينة .

* ٦ - القياس الذاتي للاشعاع : Autoradiography :

الاشعاع المتأين له نفس التأثير الذي يحدثه الضوء على الفيلم الحساس وترتبط درجة اسوداد الفيلم مع شدة الاشعاع . يفيد القياس الذاتي للاشعاع في تحديد موضع النظائر المشعة في الانسجة أو الكروماتوجرام كما في الصورة التالية وهي طريقة غاية في البساطة لا تتطلب اجهزة معقدة لا تختلف عما هي الحال في امكانيات التصوير الضوئي العادي . توضع العينة على فيلم فوتوغرافي يحمى من الضوء ويبقى في تلامس طويل لمدة كافية للتعريض المناسب . تتوقف فترة التعريض على شدة الاشعاع وتقدر من خلال التجربة والخطأ ويجب ان يؤخذ في الاعتبار ان التكثيف يتطلب انبعاث جسيمات بيتا 10^{-7} لكل سنتيمتر مربع .



شكل (٥) : القياس الذاتي للاشعاع في ورقة باستخدام الكالسيوم ٤٥

* ٧ - كشف الاشعاع على شرائح الكروماتوجرافي الورقي :

تمرر الشريحة الورقية تحت كاشفات للاشعاع او بين كاشفين للاشعاع وتسجل البيانات في صورة منحنيات تتفاوت في مساحتها حسب كمية المادة المشعة على الكروماتوجرام وهناك اجهزة تستطيع تسجيل المساحات المحتوية بقعا مشعة على الكروماتوجرام ذو الاتجاهين وتصبح قيمة العد بالارقام على ورقة لها نفس حجم ورقة الكروماتوجرام بينما لا يظهر عد الخلفية على الورقة وتكون ارقام البقع عالية الاشعاع باللون الاحمر بينما تظهر ارقام البقع متوسطة الاشعاع باللون الاسود .

* والرسم التالي يوضح تواجد المبيدات المشعة في اوراق نبات الخيار والفاصوليا بعد ١٢ ،

١٤ يوم من المعاملة على التوالي :

(أ) خيار معاملة بالبروسيميدون بعد ١٢ يوم من المعاملة .

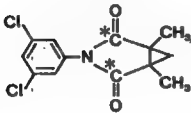
(ب) فاصوليا معاملة بالفينفاليرات بعد ١٤ يوم من المعاملة .



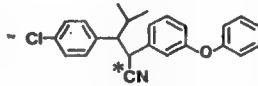
WHOLE-BODY AUTORADIOGRAMS

والشكل التالي يوضح امكان تشيع ميبد الفينفاليرات والهروسيמידون لدراسة سلوكهما في النباتات .

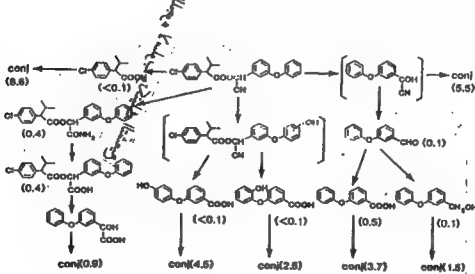
Procymidone



Fenvalerate

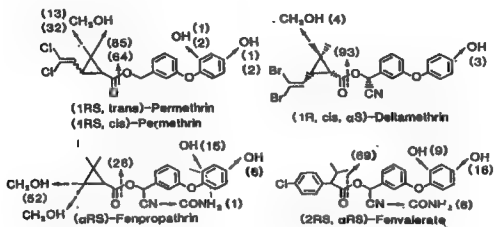


كيف يمكن معرفة سلوك ومسارات المبيد في النباتات

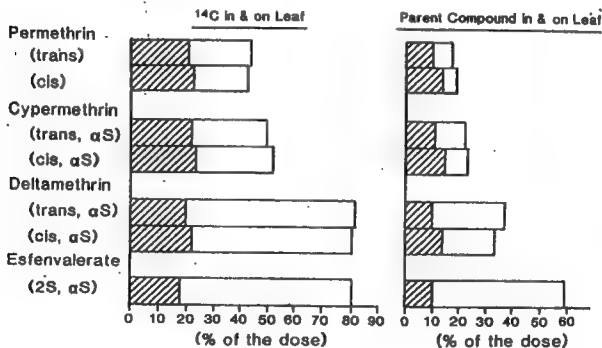


الشكل التالي يوضح مواضع مهاجمة مبيدات البيروثرويد في النباتات .

الشكل التالي يوضح مخلفات مبيدات البيروثرويد في أو على نباتات القطن بعد المعاملة بسبعة أيام .



شكل () : يوضح مواضع مهاجمة البيروثرويد في النباتات



شكل يوضح مخلفات مبيدات البيروثرويد في أو على نباتات القطن بعد المعاملة بسبعة أيام

الفصل السادس عشر

– الطرق الانزيمية لتقدير مبيدات الآفات Enzymatic methods .

* مقدمة .

* حركية تثبيط انزيم الكولين إسترز

* فعل انزيمات الكولين إسترز Action of cholinesterases

أ – تقسيم الانزيمات Classification of enzymes

ب – تقنية الفعل Mechanism of Action

* طرق قياس نشاط كولين إسترز Methods of measuring cholinesterase activity

أ – طريقة قياس الجهد Potentiometric method .

ب – طريقة المعايرة أو التثقيط Titrimetric method .

ج – الطريقة المانومترية Manometric method .

د – الطرق اللونية Colorimetric methods .

* استخدام تثبيط الكولين إسترز في تحليل مخلفات المبيدات

Application of cholinesterase inhibition to residue analysis

أ – الاستخلاص والتنقية Extraction and purification

ب – مميزات طريقة الكولين إسترز Advantages

ج – وصف مختصر لبعض الطرق المتخصصة Specific methods

١ – طرق قياس فرق الجهد Δ pti

٢ – الطريقة اللونية Colorimetric method

* قائمة المراجع

الطرق الانزيمية لتقدير ميبدات الآفات

** مقدمة

:

المركبات الفوسفورية العضوية مجموعة من الكيمائيات التي ثبتت فعاليتها ضد الحشرات وقد اكتشفت نتيجة للبحوث الرهيمية في ألمانيا خلال الحرب العالمية الثانية للحصول على كيمائيات تصلح للحرب الكيميائية . وقد امكن تقييم هذه المبيدات كاسترات حمض الفوسفوريك او مشتقاته . تتميز هذه المركبات بصفة متميزة تتمثل في مقدرتها على تثبيت نشاط مجموعة من الانزيمات التي نشترك في تحليل استرات الكولين . حيث ان هذه الانزيمات توجد بشكل واسع في الحشرات والثدييات فان المبيدات الحشرية الفوسفورية العضوية تحدث سمية عالية على الثدييات ومن ثم طورت طرق حساسة لتحليل مخلفات هذه المبيدات بالطرق الانزيمية بناء على مقدرة هذه المركبات على تثبيت نشاط انزيم الاستاييل كولين استريز ... وسوف نتناول هذه الطريقة كمثال :

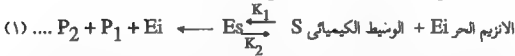
:

** حركية نشاط الكولين استريز

يساعد انزيم الكولين استريز على تحليل الاستاييل كولين كما في المعادلة

استاييل كولين + ماء —————> انزيم —————> الكولين + حامض الخليك

هذا التفاعل يمكن تمثيله بالمعادلات التالية :



حيث E_s تمثل معقد الانزيم والوسيط الكيميائي والتي تتكسر وتنتج الانزيم الحر مرة اخرى ونواج التحلل P_1 و P_2 . يعبر عن معدل التكسير للوسيط الكيميائي بالنشاط الانزيمي . وهذا النشاط يتناسب طرديا مع تركيز المعقد ds/dt . والمعادلة التالية تمثل معدل تفاعل الوسيط

$$(2) \quad -\frac{ds}{dt} = \left[-\frac{ds}{dt} \right]_{\max} \left[\frac{k_2}{s} + 1 \right]$$

حيث ان ثابت مايكل للانزيم Michaelis Constant والمعبّر عنها K_s تساوى $K_2 + K_1/K_1$ ومعدل التفاعل يساوى $(-ds/dt)_{\max}$ عندما يكون الانزيم كله في الصورة E_s

. وهذا هو مقياس النشاط الانزيمي . عندما يظل تركيز الوسيط الكيميائي ثابتا خلال مدة التفاعل تكون قيمة ds/dt ثابتة لقيمة معينة من الوسيط S ومن ثم يمكن استخدامها لقياس النشاط الانزيمي . هذه الظروف مطلوبة في حالة ما اذا كان النشاط الانزيمي سيقاس بمعدل ظهور نواج التحلل بناء على مصدر الانزيم فان ثابت مايكل يكون عادة في المدى 10^{-3} - 10^{-4} مول/لتر . ومن ثم يجب الا يقل تركيز الوسيط عن 2×10^{-3} مول . يجب تحاشي زيادة تركيز الوسيط الكيميائي لأن زيادته تسبب قمل تثبيطي على الانزيم نفسه .

* عند قياس النشاط الانزيمى بتقدير اختفاء الوسيط يصبح من المستحيل استخدام زيادة من الوسيط ولا تظل القيمة ds/dt ثابتة . فى الظروف التى عندها S_0 و S تمثل تركيز الوسيط فى البداية والنهاية ، t تمثل وقت التفاعل الانزيمى يمكن الحصول على المعادلة التالية بتكامل المعادلة السابقة (٢) :

$$K_s \log_e \frac{S}{S_0} - S_0 + S = t \left(\frac{-ds}{dt} \right)_{\max}$$

يعبر عن النشاط الانزيمى $-ds/dt$ وهذه القيمة ليست وظيفة بسيطة لقيم t و S و S_0 ويتطلب قياس النشاط الانزيمى بهذه الطريقة مع التغير فى تركيز المادة الوسيطة ، ΔS عندما تكون S_0 والوقت t ثابتة . يجب الا ينخفض تركيز الوسيط الكيمىائى لأكثر من ٥٠ ٪ من قيمته الاصلية لانه اذا حدث الى اقل من ذلك فان الخط بين النشاط والوقت سيخرج عن العلاقة الخطية .

*** حركية تثبيط الكولين استريز :

* تبعاً لدراسات Aldridge (١٩٥٣) وبحوث Casida (١٩٥٦) فان التفاعل الذى يحدث بين معظم المبيدات الفوسفورية العضوية والكولين استريز يتمثل فى تكوين معقد غير ثابت الذى يتفرد (٥) وينتج عدة مركبات بالاضافة الى الانزيم المفسر . ان فسفرة الانزيم تسد الموقع الاستراتيجى للنشط . ان عملية التحلل المائى للانزيم المفسر (معادلة ٦) عملية بطيئة ومن ثم يكون التثبيط بالمبيدات الفوسفورية غير عكسى irreversible . تعتمد التعاكسية على مقاومة الانزيم المفسر للتحلل المائى . التفاعلات ٤ ، ٥ عكسية بينما التفاعلات ٥ ، ٦ غير عكسية .

معقد الانزيم والمثبط EI = I (المثبط) + E (الانزيم الحر) (٤)

نواتج التحلل للمثبط V + الانزيم المفسر EP \longrightarrow معقد الانزيم المثبط EI (٥)

مشتق حامض الفوسفوريك P + انزيم حر E \longrightarrow الانزيم المفسر EP (٦)

$$P_2 = K_2 (EP)$$

بعد اضافة الوسيط الكيمىائى فان الانزيم المفسر EP يصبح غير فعال . معقد الانزيم والمثبط EI يتفرد ويصبح الانزيم قابلاً للارتباط مع الوسيط ويتبع ذلك الانحلال المائى .. (٧)



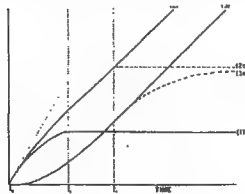
كمية الانزيم النشط Eact تحسب من المعادلة :

$$Eact = E + EI$$

* عندما يكون EP ثابتا ($K_2 = 0$) تعتمد قيمة التثبيط على النسبة بين الانزيم وتركيز المثبط الموجود اساسا في مخلوط التفاعل . قيمة التثبيط النصفى I_{50} (تركيز المثبط الذى يحدث 50% تثبيط لنشاط الانزيم) وهى من الناحية النظرية تساوى نصف تركيز الانزيم . تتناسب قيمة التثبيط طرديا مع تركيزات المثبطات مع فرض ان فترة التحضين (الوقت المتاح للتفاعل بين الانزيم والمثبط قبل اضافة الوسيط الكيميائى) تكون طويلة بما فيه الكفاية . يحدث التفاعل تبعا لحركية التفاعل من الدرجة الثانية . عندما يحلل الانزيم المفسفر EP بمعدل اعتبارى يصل التثبيط لمستوى ثابت عندما يحدث التفاعل (5) و (6) بنفس السرعة مع فرض ان المثبط (I) اكبر من الانزيم (E) .

* لقد وصف Van Asperen and Dekhuizen عام 1958 تصور لنظام التفاعل فى حالة التثبيط البطئ العكسى . الشكل (1) فيه المنحنى (2) يمثل كمية الانزيم التى حدث لها فسفرة . المنحنى (3) يمثل كمية الانزيم التى فقدت الفسفرة . المسافة الرأسية بين المنحنين تمثل كمية الانزيم المفسفر (EP) الموجود فى اى وقت . نظام التثبيط الذى يختبر تجريبيا يمثل المنحنى (1) وهذا المنحنى يوضح العلاقة بين كميات الانزيمات المفسفرة (المسافة الرأسية بين المنحنيات 2 ، 3) مع الوقت . انحدار المنحنى (2) يتناسب طرديا مع كمية الانزيم الغير مفسفر ويتناقص مع الوقت . انحدار المنحنى (3) يتناسب طرديا مع كمية الانزيمات المفسفرة وتزداد مع الوقت . عند الوقت t_1 يصل الانزيم والانحدارات تكون متساوية . عندما يصل التفاعل للاتزان يضاف الوسيط الكيميائى (الاستتابل كولين) عند وقت t_2 فى الشكل ، يقف التفاعل (5) ويظهر المنحنى (2) اقفا (2a) . التفاعل (6) يمثل بالمنحنى (3) ويستمر بسرعة متناقصة (3a) . عند الوقت t_1 يكون النشاط التجزيئى ما لا نهاية ∞ والانحدار Sa للمنحنى (2) عند الوقت t_0 والانحدار S_1 للمنحنيات 2 ، 3 عند الوقت t_1 ترتبط بالعلاقات التالية :

فى الشكل ∞ اخذت عند القيمة 0,5 عند قياس النشاط البيولوجى باستخدام الكولين استريز تحت ظروف متحكم فيها فان درجة التثبيط لهذا التفاعل بواسطة المثبط تصبح قياسا لكمية المثبط الموجود .



شكل (1) : رسم تخطيطى لتفاعل التثبيط البطئ العكسى للكولين استريز .

**** فعل انزيمات الكولين استريز**

*** ١ - تقسيم الانزيمات**

لقد اقترح Augustinsson عام ١٩٥٧ تقسيم انزيمات الكولين استريز في مجموعتان على النحو التالي : (١) الانزيمات التي يثبط نشاطها مع زيادة الوسيط الكيميائي وتشمل هذه المجموعة الانزيمات التي تعزل من الجهاز العصبي وكرات الدم . يحدث النشاط الاقصى عندما يكون تركيز الوسيط الكيميائي 3×10^{-3} مولر . وتتضمن هذه المجموعة كذلك الانزيمات التي يتبع نشاطها معادلة ميخائيل متن وفيها يحدث النشاط الاقصى عند تركيز ضئيل للغاية من الوسيط الكيميائي وهي تشمل كولين استريز سيرم الدم .

* تشمل الاستريزات جميع الانزيمات التي تساعد على التحلل المائي لاسترات حمض الكربوكسيليك . هذه الانزيمات شائعة الانتشار في الطبيعة وتتميز بالمديد من الصفات التي تعتبر كأساس للتقسيم . درجة الحموضة المناسبة لمعظم الاستريزات من المصادر الثديية من ٧,٥ الى ٨,٥ بينما الاسيتايل استريزيس من المصادر الاخرى مثل ثمار الموالح لها حموضة مناسبة من ٥,٥ - ٦,٥ . ان وجود الكولين استريز لثمت مجموعة للاستريزيس اقترحت في البداية بواسطة الباحث Dule (١٩٤٤) الذي وصف هذه الانزيمات على انها متخصصة لتحليل الاسيتايل كولين .

* لقد اصبح من الواضح ان خصوصية الوسيط الكيميائي لهذه الانزيمات ذات قيمة مطلقة بلا معنى . في الحقيقة وجدت بعض من هذه الانزيمات قدرة على تحليل الاسترات اللاكولينية بمعدل واضح . وكذلك اوضحت الدراسات البيوكيميائية انه بالرغم من اختلاف الاستريزات البسيطة والكولين استريز عن بعضهما البعض من عدة وجوه الا ان هناك تداخل في صفاتهم مما يصعب من وضع حدود فاصلة بين هذه المجموعتين . لقد تم حل هذه المشكلة عندما اقترح Richter and Croft عام ١٩٤٢ ان الانزيمات تقسم الى الكولين استريزات المتخصصة والغير متخصصة وليست استريزات بسيطة ويحدث لها تثبيط كلي عند تركيز 10^{-5} مولر انزيمين بصرف النظر عن الوسيط الكيميائي المستعمل . ان مجموعة الكولين استريز (الحساسة للايثيرين) يمكن ان تقسم الى مجموعتان الاولى تسمى الكولين استريز الحقيقي او المتخصص او E - type والثانية الكولين استريز الكاذب او الغير متخصص او S - type . لقد حاول العديد من الباحث في مجال الكيمياء الحيوية التفرقة بين انواع الكولين استريز على اساس الوسيط الكيميائي والمثبط باستخدام المبيدات الفوسفورية العضوية او قواعد الامونيوم الرباعية او مشتقات البروكاين وغيرها من المواد ومع هذا لم يتمكنوا من وضع حدود فاصلة بين هذه المجماع .

* المجموعة الاولى .. انزيمات الكولين استريز المتخصصة Specific تستخدم المواد الوسيطة اسيتايل كولين ، اسيتايل - بيتا - ميثيل كولين ، بيوتريل كولين (ليست على صورة نشطة) ولا يستخدم البنزويل كولين . توجد هذه الانزيمات في تركيزات عالية في الانسجة العصبية

للفقاريات واللافقاريات . توجد استريز مخ الحمام بمستوى اكبر ٤ مرات من الموجود في مخ الثدييات وهو من المجموعة الاولى . توجد كولين استريز هذه المجموعة بمستويات منخفضة في الانسجة العضلية من اكبر المصادر الغنية للكولين استريز . المجموعة الاولى الاعضاء الكهربائية في السمك الرعاش . انزيم المجموعة الاولى في الدم يتركز في كرات الدم كما وجد في سم الكوبرا ولكنها تختلف في الفعل المتخصص وقد وجدت هذه المجموعة في سيرم الارانب بالاضافة الى استريز اخر لا يتأثر بالمبيدات الفوسفورية العضوية .

يوجد كولين استريز دم البقر المنقى (مجموعة ١) تجاريا في عبوات يحتوى كل منها ٢٠,٠٠٠ وحدة وهي تعنى كمية الانزيم التي تتحرر واحد مليلتر مكعب من ثنائي اكسيد الكربون لكل دقيقة في المحلول المنظم ونجر بيكرينوات المتوازن مع ٥ Z ثنائي اكسيد كربون في التروجين على درجة حرارة ٣٧,٥ °م بتركيز ابتدائي من الاستيتال كولين ٠,٠٠٩٢ مولر . الكولين استريز في الجبل العصبي للصرصور الأمريكى ونحل العسل يحطم الاستيتال بيتا ميثيل كولين اسرع من الاستيتال كولين على تركيز عالى من الوسيط الكيميائى وتحدث بطء عند تركيز وسيط قليل . كولين استريز مخ الذباب يحلل الاستيتال كولين اسرع عند جميع التركيزات ومن ثم يعتبر كولين استريز متخصص (مجموعة - ١) . من البسلة يحتوى كولين استريز يحلل الاستيتال كولين والبنزويل كولين وليس استيتال - بيتا - ميثيل كولين (Fukuto - ١٩٥٧) . كولين استريز مخ الذباب يحلل ٢ جم استيتال كولين لكل جرام نسيج لكل ساعة وهي اعلى بمقدار ٥٠ - ١٠٠ مرة من انزيم مخ الثدييات وتساوى تقريبا لنشاط كولين استريز العضو الكهربى لسمك الرعاش E. electricys . ان مواصفات كولين استريز المجموعة الاولى الموجودة في مخ الذباب ونحل العسل والفيران متماثلة جدا حيث ان ثوابت ميخائيل تساوى ١,٧٥ × ١٠^{-٣} ، ١,٩٥ × ١٠^{-٣} ، ٢,٥٨ × ١٠^{-٣} على التوالي .

• المجموعة الثانية ... انزيمات كولين استريز هذه المجموعة ذات قابلية عالية للبيوتريل كولين عنه في حالة الاستيتال كولين . لا يتحلل الاستيتال ميثيل كولين بينما يتحلل البنزويل كولين . تقع انزيمات هذه المجموعة في بلازما معظم الحيوانات . تحتوى بلازما الحصان والانسان على الكولين استريز من المجموعة الثانية وغيرها من الالليستريز .

• ب - تقنية الفعل

١ - المواقع الفعالة

المركز الفعال لسطح انزيم الاستيتال كولين استريز تتكون من منطقتان اوليتان (١) موقع مشحون سالبا الذى ينظم النشاط الانزيمى من خلال جذب او ارتباط او توجيه المواد الوسيطة الكاتيونية بواسطة قوى الجذب الكولومى وفاندرفالز (٢) الموقع الاستراتي وهو المسؤول عن النشاط التحليلي . انزيم الاستيتال كولين استريز ذو القابلية للاستيتال كولين اعلى من اى استر اخر

معروف يحدث فى مواضع الالتقاء العصبى للأسجة العصبية للفقاريات واللافقاريات .

* ٢ - الفعل الفسيولوجى :

يرتبط الاستيصال كولينى بانتاج جهد العصب من خلال التحكم فى نفاذية الغشاء العصبى للأيونات وقد تحدث نفس الفعل فى التحكم فى نفاذية كرات الدم . يحتوى نسيج العصب على الاستيصال كولينى استريريز بزيادة عشرة اضعاف ويتم التوصيل عند تثبيط ٩٠ ٪ او اكثر من الانزيم (Metcalf - ١٩٥٥) .

* ٣ - مبططات انزيمات المجموعة الاولى والثانية :

المبيدات الحشرية التى تثبط الكولين استريريز تتفاعل بصور مختلفة على انزيمات المجموعة الاولى والثانية . مبيد الديازينون والسيغفين والسيستوكس والتريثيون والفورات وغيرها تحدث درجات متماثلة من التثبيط عندما تخضع مع بلازما الحصان او الإنسان . مبيدات الباراثيون والملاثيون أكثر تثبيطا لانزيم بلازما دم الانسان مقارنة ببلازما الحصان . لذلك ولكى يمكن الكشف وتقدير كميات صغيرة من الملاثيون (٢ر - ١٠ جزء فى المليون) يكون من الضرورى استخدام بلازما الانسان . يمكن التفرقة بين مبيد السيستوكس والملاثيون باستخدام بلازما الانسان والحصان .

* ٤ - سمية مبططات الكولين استريريز :

بوجه عام يمكن القول ان سمية بعض المبيدات الحشرية تحدث بسبب تثبيط الكولين استريريز ومن احسن الامثلة على ذلك سمية المبيدات الفوسفورية العضوية على الثدييات . ولقد استنتج الباحث Dubois (١٩٦١) التقنيات المسؤولة عن تقوية سمية هذه المبيدات فى التفاعلات خارج الكائن الحي ترجع الى التداخل بمركب واحد مع فقد سمية الاخر بواسطة استريريز الكبد كما فى المعادلة (٣) . والتفاعلات الثلاثة التى تؤخذ فى الاعتبار هى التنشيط Activation والفعل mechanism وفقد السمية detoxification .

١ - التنشيط (رأ) ٢ - فو - ر + اوكسينيز ميكروسوم + دايوفوسفوريدين + اكسجين
كبد^{١١} الكبد نيوكليوتيد

ر - فو - (رأ) ٢
١١

٢ - الفعل واحداث التأثير السام من خلال تثبيط الكولين استريريز .

بواسطة المركب (رأ) ٢ - فو - ر
١١

٣ - فقد السمية من خلال التحلل المائى للمركب (رأ) ٢ - فو - ر وهذا يحدث بواسطة اللاليسيتيرازات الكبد والسيرم وغيرها من الانسجة .

جدول (١) : سمية بعض المبيدات الحشرية الفوسفورية على الفئران (معاملة فمية) .

المبيد الحشرى الفوسفورى العضوى	الجرعة النصفية القاتلة	(مللجم / كجم)
ديازينون	١٠٠ - ١٥٠	
داى بروم	٤٣٠	
داى سيستون	٢ - ١٢,٥	
داى لو كس	٤٥٠	
اليون	٢٠٨	
جوثيون	١٥ - ٢٥	
ملاييون	٥٨٠٠	
باراليون	٦ - ١٥	
فوزملمين	٦,٨	
سيستوكس	٢,٥ - ٧,٥	
	١,٢ - ٢,٠	
فورات	٣,٧	
تراييون	٢,٨	

* طرق قياس نشاط كولين استريز :

توجد اربعة طرق اساسية لقياس نشاط الكولين استريز وتأثير المثبطات وهى قياس الجهد Potentiometric والتنقيط titremetric والمانومترية manometric واللونية colorimetric .. وفيتم يلى وصف لكل طريقة مع توضيح المميزات والعيوب لكل منها .

* ١) طريقة قياس الجهد

فى هذه الطريقة يسمح لانزيم الكولين استريز بالعمل على الاميتايل كولين فى محلول منظم لفترة معلومة (عادة ١ - ٢ ساعة) على درجة حرارة ثابتة . تقاس حموضة المخلوط فى البداية والنهاية والتغير فى الحموضة بسبب انفراد حمض الخليك تمثل النشاط الانزيمى (Michel - ١٩٤٩) . مقياس التغير فى الحموضة يكون مرضيا لقياس نشاط الاستريز عندما يتناسب معدل التغير فى الحموضة مع النشاط الانزيمى ومن ثم يجب اخذ النقاط التالية فى الاعتبار : (١) النقص الملحوظ فى نشاط الكولين استريز مع نقص الحموضة ، (٢) احتمال تأثير مستحضر الانزيم مع كفاءة المحلول المنظم للنظام . فى اصل الطريقة لاختار ما يكل Michel محلول منظم فيه تتناقص كفاءة الحفظ او التنظيم buffering فى المدى من ٨ الى ٦ مما يعوض عن نقص نشاط الكولين استريز .

* ب (طريقة المعايرة أو التقطيف

يتمثل اساس هذه الطريقة فى معايرة حمض الخليك المنفرد بواسطة مادة قلوية حتى درجة حموضة ثابتة باستخدام دليل قاعدى او باستخدام جهاز للمعايرة Conductometric . الطريقة الاولى يعاير حمض الخليك المنفرد مع دليل احمر الكريزول للتحلل المائى للاستيتابل كولين كما يمكن قياس التغير فى التوصيل الكهربى Conductivity خلال التفاعل الانزيمى .

* ح الطريقة المانومترية

تم وصف طريقة القياس المانومتري بجهاز فاروورج Warburg لقياس نشاط الكولين استريز بواسطة Ammon (١٩٣٣) . فى معظم الطرق المحورة فان الوسط ذو الحموضة ٧,٥ تحتوى بيكربونات وايونات الكالسيوم والمغنسيوم كمنشطات للكولين استريز وكذلك ايونات الصوديوم والبوتاسيوم اعتمادا على نوع الكولين استريز . يستخدم هذه الوسط لاذابة وتخفيف كلا الوسيط الكيميائى وجهاز الانزيم . ان دوارق فاروورج تكون ذات حجم وشكل ثابت والحجم الكلى لخلوط التفاعل يحفظ على ٢ - ٣ مليلتر وهناك بعض الحالات يستخدم حجم كبير (٥ - ٧ مليلتر) . يوضع الانزيم فى الحجرة الاساسية للدورق او فى القابلة الجانبية ويظل الوسيط الكيميائى منفصل عن الانزيم حتى بداية القياس فى نقطة البداية Zero-time وبعد ذلك تسجل قياسات المانومتر بعد فترة معلومة من الوقت .

يعبر عن النتائج بقيم ثانى اكسيد الكبرون المنفرد بالميكروليتر من المنظم بيكربونات بواسطة حمض الخليك الناتج خلال التفاعل فى الثلاثين دقيقة الاولى . فى جميع الحالات يجب تصحيح النتائج لاستبعاد تأثير الاسترات التى لم تتحلل انزيميا وتبادل الغاز من مصادر الكولين استريز فى غياب الوسيط الكيميائى . ان اهمية مختلف الايونات خاصة البوتاسيوم والصوديوم لأنواع الكولين استريز ما زالت محل دراسة ونقاش . ان قياس نشاط الكولين استريز فى غياب للمغنسيوم والكالسيوم خاصة فى التجهيزات الغير نفعية غير مستحب بسبب ضرورة هذه الايونات لاحداث النشاط .

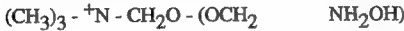
* د الطرق اللونية

١ - الدلائل الداخلية والخارجية

لقد بنى Rider ومعاونوه عام ١٩٥١ الطريقة اللونية على التحلل المائى للوسيط الكيميائى الفينيل بنزوات وانتاج الفينول الذى يقدر لونيا من خلال الازدواج بصيغة النشائيل داي ازو الحمراء B . اما طريقة Jansen وآخرون (١٩٤٩) تعتمد على تقدير مركب او كس نيتروفينيل المنفرد من او كسى نيتروفينيل استيات بفعل الاستيتابل استريز من الموالح . لقد وضع Beggs ومعاونوه عام ١٩٥٨ طريقة لقياس الكولين استريز الموجود فى الخلايا والبلازما على اساس التغير فى الامتصاص الضوئى لمصبغة مركب البروموثيمول بلو كنتيجة لانتاج حمض الخليك من الاستيتابل كولين . لقد قاس Caroway (١٩٥٦) النقص فى امتصاص الفينول .

٢ - التقدير اللونى للاستيتايل كولين :

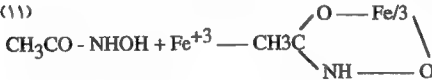
قام Hestrin (١٩٤٩) بقياس وتقدير الاستيتايل كولين الباقي اى الذى لم يدخل فى التفاعل لونيا عند تمام التفاعل الانزيمى فى وجود زيادة من ايون الحديدىك فان اللون البنفسجى لمركب Ferric acethydro - xamate (الاستيتايل كولين + هيدروكسيل امين) (تفاعل ١٠) يقاس على موجة ٥٤٠ ميكرون . استرات الاحماض الكربوكسيلية وبعض المواد الاخرى قد تنتج لون بنفسجى ومن ثم تتداخل مع هذه الطريقة .. يمكن ايضا معادلة هذا التفاعل فى الاتى :



هيدروكسيد امين + استيتايل كولين



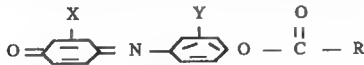
(١١)



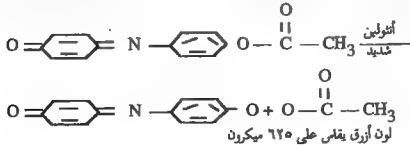
لون بنفسجى

٣ - دلائل الوسيط الكيميائى الداخلية

تم وصف الطريقة اللونية بواسطة Kramer & Gamson (١٩٥٨) لقياس نشاط الكولين استريز على اساس أن الطريقة تتطلب استخدام وسيط كيميائى يعطى لونا بعد التحلل الانزيمى وهذه الجواهر الكشافاة الملونة ذات التركيب التالى :



Y ، X مجموعات اىحالية مختلفة فى حلقة الكونويد (Δ) او حلقة البنزويد B بينما قد تكون مجموعة ميثيل CH₃ - أو أى مجموعة اخرى . التفاعل الانزيمى للاندوفينيل استيتات كما يلى :

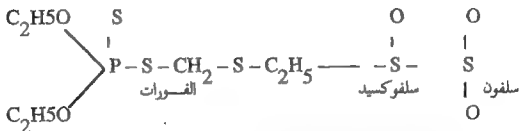


*** * تنشيط مثبطات الكولين استريز :**

* أ - طرق التشييط :

كان يقتصر استخدام طريقة تثبيط الانزيم الكولين استريز لتقدير مخلفات المبيدات على المركبات الفوسفورية العضوية التي تستخدم اولها المقطرة على التأثير على الانزيم خارج الخلايا الحية *invitro* بعد ذلك تم الكشف عن طرق كيميائية لتنشيط المبيدات التي لا تملك هذه الخاصية حتى تصبح قادرة على تثبيط الانزيم . ولقد كان *Giang & Hall* (١٩٥١) من الاوائل الذين اوضحوا ان الباراثيون يتحول بواسطة حمض الثريك المدخن البارد الى ميثب قوى للكولين استريز . وقد ثبت بعد ذلك ان الباراثيون يتحول الى بارا اوكسون مع ماء البيروم المخفف (*Fallscher & Cook* - ١٩٥٦) كما اشار *Cook* (١٩٥٩) الى ان الملاثيون وغيره من الثيونوفوسفات تتحول الى ميثبات قوية للكولين استريز على ورق الكروماتوجرام عند رشها بمركب (*NBS*) *N-bromosuccinimide* .

اشار Casida ومعاونوه (١٩٥٢) الى ان مركب الشرادان ينشط كيميائيا ويتحول الى مثبط قوى للانزيم من خلال الاكسدة بواسطة البرمنجنات المتعادلة . لوحظت تفاعلات مماثلة عند تخمضين المركب مع شرائح من الكبد او النسيج النباتي . بعض مبيدات الفوسفورثيونات التي لا تنشط باليورمين على البارد يمكن اكسدتها بواسطة بيرينزويك او بير استيك اسيد تحت ظروف خاصة (Giang Schechter - ١٩٦٠ ، Patchet & Batchelder - ١٩٦٠) . وقد اقترح بومان وكاسيدا (١٩٥٧) مسار تحول ميد الفووات الى مشتق اكسيجيني كما في المعادلات التالية :



* ب - تنشيط بعض الميادات الحشرية :

يوضح الجدول (٢) قيم التركيزات المنبطة النصفية I_{50} لبعض مثبطات الكولين استريز من مختلف المصادر عندما قدرت بطريقة قياس فرق الجهد . ثبت ان التأثير التاكسدي لماء البيرومين وحمض فوق الخليك على الديازينون والايثون متشابهين كما اتضح ان تأثير حمض فوق الخليك وفوق البترليك اسيد في تنشيط الفورات متكافئة . يثبط السيفين كولين استريز الدماغ بمقدار ١٠٠ ضعف ما يحدث لانزيم البلازما او الدم . الماثيرون والباراثيرون المنشط يثبط انزيم بلازما الانسان ١٠٠ مرة مثل كولين استريز البلازما في الحصان . فعالية الفورات المنشط فعال بدرجة ١٠٠ ضعف على انزيم مخ الذباب مقارنة بالمصادر الاخرى من الكولين استريز .

* ج - بعض دراسات تثبيط الفورات :

تم اكسدة المبيد الفوسفورى الجهازى الفورات بواسطة حمض فوق الخليك ثم قدرت نوايح الاكسدة بواسطة استكرومفوتومترى الاشعة تحت الحمراء والكرمانوجرافى الورقى وكذلك تثبيط انزيم الكولين استريز .. يوضح الشكل (٢) طيف الفورات وناج اكسدته ومشتق السلفون . والجدول (٣) يوضح فعالية وكفاءة تثبيط الفورات ونوايح التمثيل على انزيم الكولين استريز .

جدول (٢) : قيم التركيز النصف مولر التى تثبط الكولين استريز من المبيدات الفوسفورية او الكارباماتية عندما قدرت بطريقة قياس فرق الجهد .

Cholinesterase enzyme group	Enzyme group	Insecticide	Molar conc. for 50% inhibition	Method of oxidation
Horse plasma	II	Demeton	3.4×10^{-6}	None
Human plasma	II		1.1×10^{-6}	
Horse plasma	II	Diazinon	5.6×10^{-6} 8.0×10^{-6}	Bromine water Peracetic acid
Horse plasma	II	Di-Syston	2.9×10^{-6}	Peracetic acid
Horse plasma	II	Dylox	5.0×10^{-7}	None
Human plasma	II		4.1×10^{-7}	
Horse plasma	II	Ethion	4.8×10^{-8} 6.0×10^{-8}	Bromine water Peracetic acid
Horse plasma	II	Guthion	2.2×10^{-7}	Peracetic acid
Horse plasma	II	Malathion	6.4×10^{-5}	Peracetic acid
Human plasma	II		6.0×10^{-7}	Peracetic acid
Horse plasma	II	Parathion	3.2×10^{-6}	Peracetic acid
Human plasma	II		9.1×10^{-9}	Peracetic acid
Horse plasma	II		2.2×10^{-6}	
Human plasma	II		6.7×10^{-6}	
Housefly-head brei	I	Sevin	6.7×10^{-6}	None
Bovine erythrocyte	I		5.1×10^{-6}	
Horse plasma	II	TEPP	2.0×10^{-6}	None
Horse plasma			1.5×10^{-7} 1.5×10^{-7}	Peracetic acid Perbenzoic acid
Human plasma	II	Phorate	1.5×10^{-7}	Peracetic acid
Bee-head brei	I		8.2×10^{-7}	Peracetic acid
Housefly-head brei	I		6.2×10^{-8}	Peracetic acid
Horse plasma	II	Trithion	2.5×10^{-8}	Peracetic acid
Human plasma	II		3.8×10^{-8}	Peracetic acid

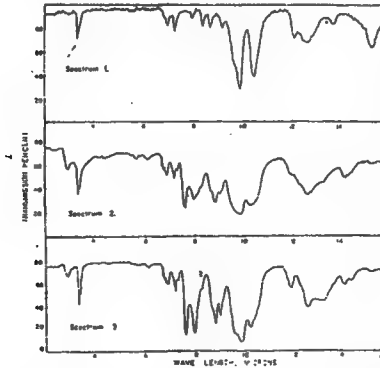
Amount of enzyme was chosen so that a Δ pH of 1.5 to 2.0 was attained in 60 minutes at 25°C with no inhibitor present. ISO is the molarity of inhibitor which results in 50% of the activity of the control.

الذى يشط انزيم الكولين استريز بالفوروات

جدول (٣) : التركيز النصفى بالمولر
ونواجج تمثيله .

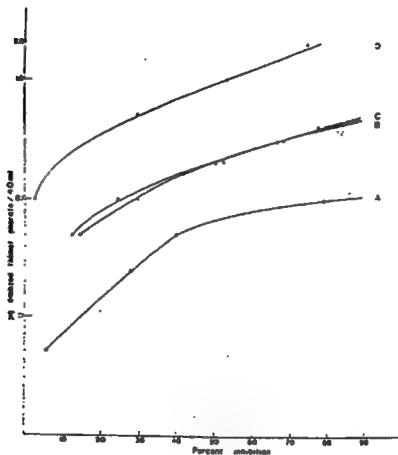
المركب	التركيز بالمولر الذى يحدث ٥٠٪ تشييط
الفوروات	$5,3 \times 10^{-5}$
الفوروات المؤكسد	$1,8 \times 10^{-1}$
فوسفوروداى ثيوات سلفوكسيد	$1,4 \times 10^{-1}$
فوسفوروداى ثيوات سلفون	$1,9 \times 10^{-1}$
فوسفوروداى ثيولات سلفوكسيد	$1,5 \times 10^{-1}$
فوسفوروداى ثيولات سلفون	$1,5 \times 10^{-1}$

تلب فترة الأكسدة دورا هاما فى تحديد نواجج التمثيل والاكسدة وقد ثبت ان الاكسدة حتى ٦٠ دقيقة باستخدام مخلوط من فوق اكسيد الايدروجين وحامض الخليك الثلجى وخلال هذه الفترة لا يحدث اى فقد يذكر .



شكل (٢) : طيف الاشعة تحت الحمراء للفوروات (١) والفوروات المؤكسد (٢) والفوروات غير المؤكسد السلفون (٣) .

* د - مصادر الكولين استريز :
يوضح الشكل (٤) منحنيات تثبيط أنزيم الكولين استريز عندما قدرت بالتغير في درجة الحموضة ΔPH للأنزيم من أربعة مصادر مع الفورات المنشط بحمض فوق الخليك . ثبت أن التركيز النصفى المثبط I_{50} لبلازما الحصان (C) وبلازما الانسان (B) تساوى 1.8×10^{-7} مولر بينما كانت مع رأس الذباب (A) 6.3×10^{-8} مولر ولأنزيم مخ نحل العسل (D) 7.2×10^{-7} مولر .



شكل (٤) : منحنيات تثبيط الكولين استريز المقطرة بطريقة فرق الجهد عند تثبيطها بالفورات المنشط بحمض فوق الخليك .

*** * استخدام تثبيط الكولين استريز في تحليل مخلفات المبيدات**

ثبت قيمة الطرق الانزيمية في الكشف عن اثار العديد من المبيدات والتي يصعب قياسها بالوسائل الكيميائية الاخرى . يجهز المحصول او السلعة الغذائية المتوقع او المشكوك في احتوائها على المبيد وتنقى ويقدر المبيد من خلال مقدرة على تثبيط الانزيم .

*** أ - الاستخلاص والتقية**

يتوقف اختيار الطريقة المناسبة للإستخلاص على الطبيعة الكيميائية للمبيد ووجود المواد المتداخلة الطبيعية والطريقة المستخدمة في قياس نشاط الكولين استريز . مع القليل من الاستثناءات يجب ان تستخلص العينة وتنظف قبل ان تصبح صالحة للتقدير بطريقة التثبيط الانزيمى . وكذلك يجب ان يحتوى المستخلص على جميع المثبط في العينة مع اقل كمية ممكنة من المواد المتداخلة ويمنسخلو العينة منها . كما يجب ان تكون عينة التحليل ممثلة للمادة محل الاختبار والتقدير .

*** ب - مميزات طريقة الكولين استريز**

من مميزات استخدام طريقة تثبيط انزيم الكولين استريز لتقدير مخلفات المبيدات الفوسفورية العضوية (١) الحساسية الزائدة بشكل كبير عن الطرق الكيميائية الاخرى ، (٢) ملائمة الطريقة خاصة اذا كان المبيد يتحول في النبات منتجاً نواتج تمثل ذات كفاءة تثبيطية عالية . ومن عيوب الطريقة انها تفتقر الى الخصوصية حيث لا يمكن من خلالها التفرقة بين الانواع المختلفة من المثبطات خاصة مبيدات الآفات .

*** جـ - وصف مختصر لبعض الطرق المتخصصة**

١ - طرق قياس فرق الجهد

استخدم **Giang & Hall (١٩٥١)** في البداية طريقة فرق الجهد بنجاح لتقدير **Tepp** والبارا او كسون وغيرها من المبيدات الفوسفورية العضوية التى تعمل كمثبطات خارجية **In Vitro** . الطريقة غير مناسبة لمبيدات الثيونو والداى ثيو فوسفات بسبب مقدرتها الضعيفة على تثبيط الانزيم خارجيا . لقد استخدمت طرق كيميائية لتنشيط مثل هذه المبيدات وتحولها الى مركبات عالية المقدرة على التثبيط .

تذاب المواد القياسية ومستخلصات العينة في مذيب عضوى مناسب وتوضع في كأس سعة ١٠ مليلتر يحتوى على ٥٠ ميكروليتر جليسرول . يتم تبخير المذيب العضوى بواسطة تيار هواء دافئ وفائدة الجليسرول انه يحفظ المبيد من الفقد بالبخار . يوضع الكأس مع قضيب زجاجى فى حمام مائى هزاز مضبوط الحرارة على $CO + ١^\circ$ م . يضاف ٣ مليلتر من مخلوط البلازما فى المحلول المنظم على فترات ١ دقيقة . البلازما تؤخذ من بلازما دم الانسان او الحصان . يسمح لمخلوط الانزيم والمثبط للاستقرار فى الحضانة لمدة ٢٩ دقيقة على ٢٥° م . تقاس حموضة المحلول بواسطة

جهاز قياس الحموضة PH meter وبعد الدقيقة ٣٠ بالضبط يضاف ١ مليلتر من الاسيتايل كولين بروميد لكل كأس . الكؤوس المتبقية تعامل بنفس الطريقة على فترات كل دقيقة واحدة بعد تخضين الانزيم مع الوسيط الكيميائي لمدة ٦٠ دقيقة على ٢٥ م . يعاد قياس الحموضة وتسجيلها . التغير في الحموضة ΔPH للمقارنة يجب ان يقع في حدود ١,٥ - ٢ وحدة من المفضل تحليل ٣٦ عينة بما فيها العينات القياسية . تحسب النسبة المئوية للتثبيط من المعادلة التالية :

التغير في الحموضة = PH البداية - PH النهاية (٣)

$$I \text{ تثبيط} = (1 - \frac{\Delta PH \text{ في العينة}}{\Delta PH \text{ في المقارنة}}) \times 100 \quad (٤)$$

إذا كانت هناك حاجة لتنشيط المبيد حتى يصبح قادرا على تثبيط الانزيم يحضر محلول طراز من مخلوط يحتوي على حجم ٣٠ % من فوق اكسيد الايدروجين مع ٥ حجوم من حمض الخليك الثلجي . يسخن ٥ ملليلتر من مخلوط الأكسدة لمدة ٢٠ دقيقة على ٧٥ ° م . بعد اكتمال الأكسدة يفسل حمض الخليك الثلجي الزائد من البنزين باستخدام محلول كبريتات الصوديوم المشبعة مرتان ١ ملليلتر في كل مرة وثلاثة مرات من الماء المقطر كل مرة ١ ملليلتر كذلك ، يتم تجفيف طبقة البنزين على طبقة من كبريتات الصوديوم اللامائية وترشح ثم تقدر كما سبق .

٢ - الطريقة اللون

استخدم Archer & Zweig (١٩٥٩) طريقة لونية مع الوسيط الكيميائي اندوفينيل اسيتات . وفي هذه الطريقة يكون من الضروري استخدام انزيم كولين استريز المخ او الدم . تعتمد الطريقة على القياس المبائر للون على ٦٢٥ ميكرون لنتاج التحلل المائي للاندوفينيل اسيتات على درجة حموضة ٨ - الجدول التالي مقارنة للطرق الثلاثة لتقدير احد المبيدات الفوسفورية .

جدول (٣) : مقارنة لكفاءة ثلاثة طرق للتقدير بالانزيم .

الطريقة	الوسيط الكيميائي	جزء في المليون ppm
التغير في الحموضة	ايتايل كولين كلوريد	٣٥,٠
الكروماتوجرافى الورقى	—	٣٧,٥
الطريقة اللونية	اندوفينيل اسيتات	٣٩,٦

REFERENCES قائمة المراجع

Note : Only some of the papers dealing with the specific topic of the inhibition of cholinesterase by organophosphorus and carbamate insecticides are cited. This in no way ignores the important contribution by many other scientists, but an allinclusive bibliography does not fall within the scope of this chapter.

- Aldridge W. N. (1958). *Biochem. J.* 54, 442-448.
- Ammon, R. (1988d). *Pflügers Arch. Ges. Physiol.* 233, 486.
- Archer, T. E. and Zweig, G., (1959), *J. Agr. Food Chem.* 7, 168-181.
- Archer, T. E. and Zweig, G., Winterlin, W., and Francis, K. (1963), *J. Agr. Food Chem.* 11. 58-63.
- Augustinsson, K. B. (1957). In "Methods of Biochemical Analysis" (D. Glick, ed.). Vol. dī. pp. 1-63. Interscience. New York.
- Beggs, H. G., Carey, S., and Morrison, D. B. (1958). *Am. J. Clin. Pathol.* 30.181-186.
- Bowman, J., and Casida. J. (1957). *J. Food Chem.* 5, 192-197.
- Caraway, W. (1956). *Am. J. Clin. Pathol.* 26, 945-955.
- Casida, J. E. (1955). *Biochem. J.* 60. 487-197.
- Casida, J. E. (1956). *J. Agr. Food Chem.* 4, 772-785.
- Casida, J. E. Allen. T. C., and Stahmann, M. A. (1952). *J. Am. Chem. Sec.* 74.5545.
- Cook, J. W. (1955a). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 38, 826-882.
- Cook, J. W. (1955b). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 38, 150-152.
- Curry, A. N., Kress, L. M., and paylor, R. A. L. (1961). *J. Agr. Food Chem.* 9. 469-177.
- Dale, H. H. (1914). *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 6, 147-150.
- Davies, D. R., and Rutland, J. P. (1950). *Biochem. J.* 47, 21-22.
- Dubois, K. P. (1961). *Advances in Pest Control Research* 4, 117-151.
- Dutch Paten (1953). No. 73307 (September 15, 1958(; *Chem. Abst.* (1954).48, 7104.

- Fallscheer, H. O., and Cook, J. W. (1956). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 39, 691-697.
- Fukuto, T. R. (1957). *Advances in Pest Control Research* I, 147-192.
- Gage, J. C. (1961). *Advances in Pest Control Research* 4, 188-210.
- Clang, P. A., and hall, S. A. (1951). *Anal. Chem.* 23, 1880-1884.
- Clang, P. A., and Schechter, M.S. (1960). *J. Agr. Food Chem.* 8, 51-54.
- Hall, G. E. and Lucas, C. C. (1987). *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 59, 34.
- Hestrin, S. (1959), *J. Biol. Chem.* 180, 249-261.
- Jansen, E. F., Nutting, M.D.F., Jang, R., and Balls, A. K. (1949). *J. Biol. Chem.* 179, 189-199.
- Kramer, D. N., and Gamson, R. M. (1958). *Anal. Chem.* 30, 251-254.
- Lesuk, A. (1949). U.S. Paten 2.475.792 U.S. Patent 2.475.793.
- Metcalf, R. L. (1955). "Organic Insecticides" pp. 251-315. Interscience. New York.
- Metacalf, R. L., Fukuto, T. R., and March, R. B. (1957). *J. Econ. Entomol.* 50, 838-845.
- Michel, H. (1949). *J. Lab. Clin. Med.* 34, 1564-1586.
- Miskus, R., and Hassan, S. (19k59). *J. Econ. Entomol.* 52, 3530355.
- Pack D. E., ospenson, J., and Kohn, G. K. (1960). Abstr. 188th Meeting Am. Chem. Soc., Atlanta City, September, No. 58. p. 20A.
- Patchett, G. G., and Batchelder, G. H. (1960). *J. Agr. Food Chem. S.* 54-57.
- Renshaw, R. R., and Bacon, N. J. (1926). *J. Am. Chem. soc.* 48. 1726.
- Rithter, D., and Croft, P. C. (1942). *Biochem. J.* 36. 746.
- Rider, J. A., Moeller, H. C., and DuBois K. P. (1951). *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 76, 427.
- Strehler, E., and Meyer, H. (1952), *Helv. Med. Acta* 19.555.
- Van Asperen, K., and Dekhuijzen, H. M. (1958). *Blochim. et Biophys. acta* 25. 603-613.
- Zweig, G., and Archer, T. E. (1958). *J. Agr. Food Chem.* 6. 9100916.

الفصل السابع عشر

- استخدام تقدير المناعة في تحليل مخلفات مبيدات الآفات :

- * مقدمة
- * مميزات تكنولوجيا كيمياء المناعة .
- * استخدام الطريقة مع المبيدات الكيميائية .
- * توازن مميزات التحليل بالمناعة .
- * الاستخدامات في كيمياء المبيدات .
- * تحليل المركبات التي يصعب تحليلها بالطرق التقليدية .
- * تمييز المشابهات والمركبات القريبة .
- * تحليل سوائل جسم الانسان ومعلقات حيوية .
- * تحليل اعداد كبيرة من العينات .
- * التحليل السريع او / والميداني .
- * تحليل نواتج بحوث التكنولوجيا الحيوية .
- * التوصيات .
- * صلاحية التحليل بالمناعة .
- * ادخال التحليل المناعي في معامل التحليل .
- * اختيار المركبات الاولية للتحليل .
- * قائمة المراجع

استخدام تقدير المناعة في تحليل مخلفات مبيدات الآفات

Utility of immunoassay in pesticide trace analysis

مقدمة Introduction :

تستخدم طرق تقدير المناعة على نطاق واسع في الكيمياء الحيوية وتحليلات الغذاء الصماء وكذلك الكيمياء التشريعية ونادرا ما تستخدم في الكيمياء البيئية . والفشل السابق الذي عانى منه الكيميائيون المعنيون بعلوم البيئة من عدم الاستفادة من هذه الوسيلة التكنولوجية المتقدمة على نطاق واضح يرجع الى الخلفية التاريخية السابقة وليس الى عدم ملائمة هذه التكنولوجيا . وفي عام ١٩٨٠ اشار Hammock & Mumma الى مقدرة كيمياء المناعة في تحليل المبيدات وعددوا نقاط قبولها . وبعد ٦ سنوات اظهرت العديد من الهيئات اهتماما كبيرا بهذا التكيف على المستوى الاكاديمي والحكومي والمعامل الصناعية . وخلال الحقبة الزمنية الاخيرة بدأ استخدام تكنولوجيا كيمياء المناعة في تناول المشاكل المتعلقة بالكيمياء البيئية في هذه المعامل . ونستطيع القول ان هذه التكنولوجيا لا تمثل العلاج الحاسم والشافي لكل المشاكل ولكنها تعتبر وسيلة مكملة لطرق التحليل التقليدية في مختلف المجالات . وتقدم هذه الوسيلة مميزات متعددة عما هو الحال مع الطرق الكلاسيكية المعروفة في حل بعض المشاكل وربما تكون الطريقة التكنولوجية الصالحة في بعض المجالات الاخرى .

وسنحاول في هذا المقال وصف كيفية عمل وتطوير طريقة التقدير المناعي لمخلفات المبيدات وغيرها بما يطلق عليه كيمياء المناعة immuno chemistry مع القاء الضوء على مميزات وعيوب هذه التكنولوجيا مع الاشارة الى البحوث السابقة والحالية التي تجرى في معامل الحشرات والتوكسيكولوجيا البيئية في جامعة كاليفورنيا لتقدير مخلفات المبيدات . وهذه التكنولوجيا وبساطة اسلوب بديل وغير مكلف لطرق التحليل التقليدية .

مميزات تكنولوجيا كيمياء المناعة Advantages of immunochemical technology :

طريقة تقدير المخلفات باستخدام اسلوب المناعة يستخدم بوجه عام في كيمياء المبيدات ، وتتميز هذه الطريقة بالحساسية والتخصص والدقة مما يحقق تحليل سريع ومناسب التكلفة كما انها قابلة للتطوير بما يتلاءم مع العديد من المشاكل الخاصة بالتحليل .

* استخدام الطريقة مع المبيدات الكيميائية Applicability to pesticide chemicals :

التقدير بأسلوب كيمياء المناعة تمثل الاستخدام الفوري للتكنولوجيا الحيوية biotechnology وبالرغم من ان هذه الطريقة تعتبر طريقة طبيعية physical استنادا الى قانون فعل الكتلة وليس حيوية bioassays الا انها تستمد حساسيتها الفائقة وتخصصها العالي الى النظم الحيوية biological systems التي تنتج الاجسام المضادة التي سوف ترتبط بالمركبات التي

تملك قابلية كبيرة للارتباط بها . ومن المحتمل ان تستخدم طرق تكوين المناعة لتقدير تركيزات واسعة الاختلاف بدرجة تفوق ايا من تكنولوجيات التحليل الاخرى . وحيث ان قابلية الجسم المضاد للمركب المعنى بالتقدير تتوقف على مجموع مختلف التداخلات الغير تكافؤية non covalent يصبح من الصعوبة بمكان تجهيز الاجسام المضادة للجزيئات الصغيرة . ومن حسن الحظ عدم وجود حدود قصوى لحجم المركبات الممكن تحليلها . وحيث ان مجال مكافحة الآفات تتجه لاستخدام الجزيئات الخلقية المعقدة (مثل مثبطات النمو الحشرية الدايفلوبيزورون والكلور سلفيرون) ونواتج التخمر مثل الافيرمكتين والبروتينات مثل توكسينات بكتريا الباسيلس ثوريينجيسيز ، يصبح من الأهمية ايجاد طرق مقبولة لتحليل هذه الجزيئات الضخمة .

تحليلات المناعة تجري عادة في محلول مائي ولذلك يجب ان يكون الجزيء المطلوب تحليله وتقديره ذائب متوسط (على الأقل) في الماء . ومن المثير للدهشة ان الذوبان في الماء نادرا ما يعتبر مشكلة حيث انه حتى المركبات شديدة الحب للدهون Lipophilic غالبا ما تكون ذائبة في الماء عند تركيزات غاية في الصغر « البيكو pico أو الفيمتومولار Femtomolar » وهذه تلائم طريقة المناعة . وحتى المركبات شديدة القلة في الذوبان يمكن ان تكون في متناول الجسم المضاد في صورة جسيم دقيق micelles او مع مرافقات الانزيمات الذائبة في الماء . والمشاكل المصاحبة لتحليل المركبات عالية الذوبان في الدهون ترجع في العادة الى ازالته من الوسط الزيتي بدرجة تفوق المشاكل الناجمة عن الذوبان المطلق . وكقاعدة عامة تستخدم تحليلات المناعة للكشف وتقدير الجزيئات التي يصعب تقديرها بالكروماتوجرافى الغازى السائل مما يضىء على هذه الطريقة اهمية كبيرة كتكنولوجيا مكتملة مثيرة للاهتمام . وبالرغم من سهولة ايجاد طريقة تحليل المركبات الذائبة في الماء الا انه يمكن القول وبدون استغراب ان تكنولوجيا كيمياء المناعة يمكن ان تستخدم لتحليل اى مركب . وبذلك تستخدم هذه التكنولوجيا بنجاح لتقدير مخلفات معظم مبيدات الآفات الشائعة في الوقت الحالى ومن المتوقع ان تلائم هذه الطريقة للجيل التالى من المركبات .

* توازن مميزات التحليل : Balancing the advantages of immunoassay

في عام ١٩٧٤ بدأت دراسات في معامل جامعة كاليفورنيا لتحديد امكانية استخدام تكنولوجيا كيمياء المناعة لتحليل مبيدات الآفات وغيرها من الكيمائيات . ولقد صممت البحوث لتقييم مميزات وحدود هذه التكنولوجيا في مجال الكيمياء البيئية . والجدول التالى (١) يوضح مميزات وحدود هذه الطريقة . وهذه المعايير ليست قواعد ثابتة حيث يمكن التغلب على العديد من محدودات هذه الطريقة باللجوء الى استخدامات مبتكرة لهذه التكنولوجيا المتطورة .

جدول (١) : مميزات وعيوب تكنولوجيا كيمياء المناعة .

المميزات	العيوب
عام الاستخدام	يعتبر تكنولوجيا جديدة فى معامل الدراسات البيئية
عالية الحساسية	فائق الحساسية
عالية التخصص	من الصعب استخدامه فى التحليل المتعدد
عالية الدقة	تفاعل مع المواد المتداخلة .
سرعة جدا	الجواهر الكشافة غير متوفرة
قليلة التكاليف	مسمياتها غير محددة
يمكن تطويرها بدرجة كبيرة	تتطلب عينة كبيرة للتحليل

ويجب ان نعيد التذكرة بان هذه الطريقة طبيعية تعاني من نقص تحليل حدوثها واجراءها . والمشتغل الذى عنده دراسة بهذه التكنولوجيا يستطيع عمل توازن بين مميزات وحدود التحليل الخاص بالمواصفات المطلوبة ، وهناك بعض الباحث غير قادرين على تحقيق كل مميزات طريقة التقدير المناعى . ومن الممكن تصميم طريقة تقدير مناعى غير مكلفة ذات حساسية متوسطة للكشف عن المخلفات الكيميائية وتطوير هذا الانجاز مع عدم توفر اجهزة متخصصة أو اشخاص مدربين . والبعض لا يتوقع ان تكون هذه الطرق عالية الحساسية والدقة . وبالرغم من ان طريقة تقدير المناعة تتفوق فى قوتها كطريقة لتحليل المركب الواحد الا انه يمكن تطويرها وجعلها قادرة على الكشف عن مجموعة من المركبات (مثل المبيدات الحشرية من مجموعة الأسيل يوريا) أو مخلوط المركبات (المواد ذات النشاط السطحي الغير ايونية) ولكن هذه التطويرات لا يمكن ضمان ان تحتفظ بميزة الحساسية العالية .

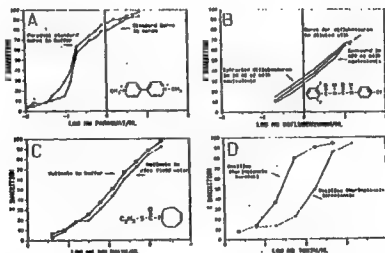
ولقد أكدت سنوات الخبرة العديدة فى مجال الكيمياء التشخيصية وزيادة الخبرات فى الكيمياء البيئية تعاظم مميزات اسلوب المناعة فى تحليل المخلفات . وتعتمد الحساسية العالية لهذا الاسلوب على الارتباط العكسى واللصيق للجسم المضاد مع المركب مجال التحليل . وحيث ان هذا الارتباط مبنى على مجموع التفاعلات الغير تكافؤية (خاصة التفاعلات الجزيئية الضعيفة التى تعتمد على القرب بين المجموع المتفاعلة) فان التفاعلات البيئية عالية التخصص . ومميزات التخصص والحساسية تمكن القائم بالتحليل من اجراء التحليل مباشرة على الوسط الحيوى الخام

كما فى الشكل IA لمبيد الباراكوات فى السيرم . وهذه الميزة تسمح بالاستغناء عن بعض خطوات الإستخلاص او التنظيف مما يزيد من سرعة اتمام التقدير وتقليل التكلفة وزيادة دقة العملية . وخير مثال لتأكيد هذه الميزات ما امكن تحقيقه من زيادة كفاءة التحليل مائة مرة فى عينات الالابان المطلوب تجهيزها لكل عامل فى اليوم مع تقليل التكلفة وزيادة الدقة والحساسية .

وحيث انه طورت العديد من مجاميع المبيدات مثل البيروثروينز ومشتقات أسيل يوريا الحشرية أو سلفونيل يوريا لمكافحة الحشائش ، اصبح من المهم تطوير طرق تحليل حساسة للكشف عن المخلفات ذات الاهمية التوكسيكولوجية . ومن اكفاً الانجازات التى امكن تحقيقها فى تحليلات المناعة مع اقل قدر ممكن من خطوات التنظف ما تحقق مع مركب اليوربا دايفلوبيزيرون (الشكل IB) .

وبالرغم من الميزات العديدة للتحليل بالمناعة الا ان فرط الحساسية يمثل نقطة الخوف الكبيرة فهناك احتمال لامكانية الاعتماد على هذا التنكيت لتقليل مستويات المخلفات التى يمكن الكشف عنها . وبالتأكيد هذا الاحتمال صحيح ولكن نفس الخوف ينطبق على جميع التحليلات بالوسائل الطبيعية . ومن المضحك انه يمكن تطوير طرق تقدير مناعية حساسة ولكنها ستكون على حساب فقد مميزات السرعة والدقة واقتصادية التكاليف . والميزة الحقيقية لهذا التنكيت تتمثل فى امكانياتها فى تحقيق مستويات من الحساسية فى مجال التوكسيكولوجى مع توفير مجهودات وتكاليف كثيرة . وفى الحقيقة يمكن التحكم فى درجة حساسية هذه الطريقة بالمقارنة بالطرق الطبيعية الاخرى .

وجميع التحليلات المناعية تعتمد على قانون فعل الكتلة وكذلك على قياس الجسم المضاد الذى يرتبط بالمركب او الجسم المضاد الحر والمركب . وهذا يقدم للباحث ميزة كبيرة للتصرف وتحرير التنكيت بما يمتشى مع المشكلة التى يتناولها . وباستخدام نفس الجسم المضاد يمكن



شكل (١) : بعض الامثلة لاستخدامات التحليل بالمناعة immunoassay فى تحليل مبيدات الآفات .

للباحث تطوير طريقة ميدانية سريعة أو طريقة تحليل النسبة المئوية للتثبيت في الـ Elisa المتنافسة ممثلة في مقابل لوغاريتم المادة محل التقدير بالنانوجرام / مليلتر . الرسوم من A الى C توضح المنحنيات القياسية لمادة التحليل في محلول المنظم في مقابل واحد أو أكثر من منحنيات المركب والسعى اجريت مباشرة في المادة البيئية أو مستخلصات هذه المادة . الشكل A يوضح تحليل مبيد الباراكوات في سيرم الماشية . هذه النتائج توضح ان أكثر من ٣٣ Z سيرم (أو الليمف) يمكن تحليلها للكشف عن الباراكوات بدون تغيير المنحنى القياسى . ويمكن تحليل كميات كبيرة من السيرم بعمل منحنى قياسى فى السيرم او باستخلاص الباراكوات من السيرم . وكان تركيز الانتيجين المغلف ١ ميكروجرام/مليلتر ودرجة تخفيف الجسم المضاد ١ : ٤٠٠٠ . والشكل B يوضح تحليل الدايفلوتيزيرون (ديميلين) فى اللبن الخام ومستخلصات اللبن (الخطوط السادة) . تم استخلاص اللبن بمذيب الايثايل استبات تبعاً لطريقة AOAC المعروفة . وتوضح النتائج ان الجسم المضاد قادر على استخلاص الدايفلوتيزيرون من الكريات الموجودة فى اللبن بواسطة فعل الكتلة . ولقد ادى اتباع طرق الاستخلاص البسيطة المتنوعة باذخال الجسم المضاد المناسب الى زيادة حساسية التحليل بالناناعة . وأكثر من ٥٠ Z لبن اضيفت دون حدوث اختلافات معنوية فى المنحنيات القياسية . وكانت الاختلافات داخل التجربة نفسها فى حدود ٣ Z ووصلت ٥ % بين التجارب وبعضها لعدة شهور . كان تخفيف الجسم المضاد ١ : ١٢٠٠ . الشكل (C) يوضح تحليل مبيد الموليبيتيك فى عينات المياه من حقول الارز . وتم اضافة محلول PBS كمعظم لعينات المياه ثم عوملت بالموليبيتيك ولم تلاحظ اختلافات فى المنحنيات القياسية عندما كانت نسبة الماء فى العينات ٥٠ % . ويمكن زيادة حساسية الطريقة باستخلاص الموليبيتيك بخلات الايثايل او التولوين . ثم تركز المستخلصات ويؤخذ الموليبيتيك فى البروبيلين جليكول ثم يضاف للجسم المضاد . ويمكن اضافة أكثر من ٥ Z بروبيلين جليكول مع الأليزا . وكان تركيز الانتيجين المغلف فى ميكروجرام / مليلتر وتخفيف الجسم المضاد ١ : ٤٠٠٠ . والشكل (D) يمثل المنحنيات القياسية للتوكسينات المتبلورة للباسيلس التى اجريت فى مواد مجهزة . وتوضح النتائج امكانية استخدام طريقة التحليل بالناناعة للتحليل الكمي للبروتينات التى تمثل المواد الفعالة للمبيدات الحيوية ومواد الهندسة الوراثية . وتستخدم هذه الطريقة كوسيلة اضافة حيوية للكشف عن انتاج ومطابقة مواصفات المستحضرات . كان تركيز الانتيجين المغلف (ميكروجرام / مليلتر وتخفيف

الجسم المضاد ١ : ٤٠٠٠ للبكتريا الاسرائيلية و ١ : ٨٠٠ لسلالة كورستاكى . والعديد من الطرق الطبيعية للتحليل تستخدم لتقدير المادة المرتبطة فى مقابل الحرة بما فيها جهاز قياس الوميض وقياس العكارة أو استقطاب الضوء أو الأشعة المرئية أو الأشعة فوق البنفسجية والطرق الاسبيكتروفوتومترية بالالكترونات والعديد من الطرق الاخرى . وكل من هذه الطرق له مجالات مختلفة كثيرة .. وعلى سبيل المثال اذا تناولنا الطريقة الانزيمية المدعمة بتحليل المناعة « الاليزا Elisa » En- zyme linked immunosorbant فان هناك العديد من انواع او تحت اقسام « الاليزا » وتعطى اسماء مختلفة على العيوات مع ان الاساس واحد . ومن المؤسف ان امكانية تحقيق تحويلات كثيرة فى التكنيك ادى الى خلق تشويش على اساس الطريقة وتكنولوجياها السهلة . واذا اكتسب شخص خبرة كبيرة فى مجال التحليل المناعى سيكون على دراية كافية بغيرها من المجالات الاخرى ، الا ان التسمية نفسها الخاصة بهذا التكنيك ما زالت تخوف وترعب الكثير من القائمون بالتحليل الكيمياءى . وترجع جميع الاختلافات فى التحليل المناعى على التفاعل العكسى بين الجسم المضاد والمركب . ان تدبير جسم مضاد ممتاز يمكن من تجهيز واستخدام اى من الاصول الموجودة لتصميم طريقة تحليل مناعى للتقدير الكيفى والكمى للمركب محل الدراسة . والاقتراب من هذا الاتجاه فى التحليل يؤكد على الكيمياءى الالتزام بمحددات نجاح الطرق الاخرى فيما يختص باخذ العينات وتداولها وتجهيزها وكذلك المفاهيم الاساسية للتحليل . والالمام بالتعريفات الثلاثة الآتية يمكن من اضافة الاصطلاح كيمياء المناعة الى مهمات القائم بالتحليل :

- الجسم المضاد Antibody احد اقسام بروتينات السيرم التى ترتبط مع الانتيجين .
- الجزء المحفز Antigen الجزئى (عادة بروتين) الذى يحفز انتاج الاجسام المضادة ويرتبط بها .
- الهيئات Heparin المركب (غالبا جزئ صغير) الذى يرتبط بالاجسام المضادة ولكنه غير قادر لوحده على انتاج الاجسام المضادة .

* الاستخدامات فى كيمياء المبيدات pesticide chemistry Application :

المميزات والحدود الخاصة بتكنولوجيا كيمياء المناعة المدونة فى الجدول رقم (١) تترجم الى بعض الاستخدامات الحالية فى كيمياء المركبات التى ستذكر فيما يلى :

* تحليل المركبات التى يصعب تحليلها بالطرق التقليدية :

من اوضح استخدامات كيمياء المناعة هو تحليل المركبات التى يصعب تحليلها بالطرق التقليدية . وكما هو معروف فان الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC يستخدم بدرجة كبيرة مع المركبات المتطايرة (عادة كارهة للماء وصغيرة الوزن) والثابتة فى الحرارة والتى لها بعض الصفات التى تمكن من الكشف عنها بواسطة الكاشفات المتخصصة . والكروماتوجرافى السائل على الكفاءة

HPLC أقل تقييدا ولكنه مازال يعتمد على بعض الصفات المحددة للكشف . والمعايير المذكورة اعلاه ليست ضرورية لتحقيق نجاح التحليل للمناعى ولو ان هناك اتجاه يوضح ان التكنيك يعتبر مكملًا للتكنولوجيا الموجودة ويمكن استخدامه ككاشفات عالية الكفاءة (HPLC) . وكما هي العادة البشرية فانه لا يبدأ بتجربة التكنولوجيا الجديدة الا عندما تفشل التكنولوجيا الموجودة والمستخدمة فعلا ، ولسوء الحظ استخدم تكنيك التحليل للمناعى فى البداية مع بعض مشاكل التحليل المستعصية . وفى معظم الحالات تفوق هذا التكنيك للدرجة اعتباره المنقذ Savior . ونود الاشارة الى انه لو قدمت طرق التحليل للمناعى فى معمل به افراد غير مدربين جيدا لتحليل بعض المركبات المستعصية التحليل "night mare" (شديدة القدرة على التفاعل - صغيرة جدا - شديدة الحب للدهون - موجودة بمستويات قليلة جدا - يصوق ظهور المناعة) فان الفشل فى التقدير وعدم النجاح سيكون معوقا لهذه التكنولوجيا .

وفى معامل كاليفورنيا استخدم تكنولوجيا كيمياء المناعة لتحليل مجموعة من المركبات التى يصعب تحليلها بالطرق الكلاسيكية .. ومثال ذلك : مركب الالستيرين البيرثرويدي الذى يفقثر لوجود مجموعة يسهل الكشف عنها بالكروماتوجرافى الغازى السائل GLC والعالي الحساسية HPLC ، والمبيدات الحشرية من مجموعة الاسيل يوريا ومبيد الحشائش الباراكوات تتطلب اجراء خطوات عديدة قبل الكشف بالـ GLC مع ملاحظة ان طريقة الـ HPLC قليلة الحساسية جدا ، بينما مركب Triton-X غير متطاير ويصعب استخلاصه ويعطى منحنيات عديدة على الـ HPLC . ومن المؤكد ان التركيب والنشاط العالى لمركبات السلفونيل يوريا يوضح ان تكنولوجيا التحليل للمناعى تصلح تماما لتقدير مثل هذه التركيبات .

* تمييز المشابهات والمركبات القريبة

Discrimination of chirality and closely related compounds

نظرا للتكاليف المتزايدة لمستلزمات التحليل والقيود الخاصة بالاعتبارات البيعية قد يقرر البعض ان المركبات التى تباع فى الاسواق قد تكون غنية فى المراكز النشطة ضوئيا او على صورة كيميائيات نقية . والمركبات الاخرى عبارة عن مخاليط راسيمية والتى يمكن ان تنهار بصور مختلفة فى البيئة . ومن ثم تصبح المقدرة على التمييز بين المشابهات الضوئية على مستوى المخلفات فى غاية الاهمية . فمركب الالثرين يتكون من 8 مشابهات ضوئية وهندسية ومن اكثرها فعالية بيولوجية المشابهات 3R, 4S, IR . ولقد امكن تطوير نظام تحليل مناعى عالى التخصص لكل مشابه على حده مما يؤكد مقدرة هذه التكنولوجيا على التعامل مع المشابهات .

وفى مجال كيمياء المبيدات تقوم المعامل بتطوير مركبات ذات صفات طبيعية متماثلة وهذا هو الموقف مع الديريلين وغيره من المركبات الفعالة مثل Bay Sir 8514 . ويتطلب فصل هذه المركبات تجهيز عمود عالى الكفاءة جدا للـ HPLC . بينما امكن تطوير طريقة تقدير مناعى

يمكن من الكشف عن مجموعة هذه المركبات والتفرقة بين الديقيلين وغيره من المركبات القريبة منه حتى التي ظهرت بعد تطوير هذه التكنولوجيا .

* تحليل سوائل جسم الانسان ومعلومات حيوية

Analysis of human body Fluids and as biomarkers

لتقييم درجة تعرض الانسان للسموم يصبح من الضروري تحليل سوائل الجسم مثل البول والدم . وحيث اننا نتجه لايجاد علاقة بين التعرض والسمية توجه الاهتمامات المتزايدة الى تحليل المركبات الصلبة ونواجج تمثيلها وعلامات التسمم في الافراد الذين يتعرضون مهنيا او بيئيا . والتحليل المناعي يناسب التشخيص الاكلينيكي وتحقيق الحساسية العالية لهذا التكنيك تتطلب مواد حيوية تافهة وقليلة . وعلى سبيل المثال تستخدم طريقة المناعة لتشخيص التسمم بمبيد الباراكوات ، ولقد ثبت امكانية تقدير مخلفات المبيد مباشرة في عينات الدم والبول والليمف باستخدام التحليل المناعي وبحساسية شديدة تفوق جميع الطرق الاخرى المعروفة . وسرعة اجراء التحليل تتيح فرصة كبيرة لاجراء دراسات حركية الكيمياء Pharmacokinetic لتقييم خطورة التعرض المهني للسموم .

* تحليل اعداد كبيرة من العينات Analysis of large numbers of samples

التحليل بالمناعة Immunoassay طريقة غاية في السهولة وقليلة التكلفة مما يجعله اسلوب نموذجي لتحليل اعداد كبيرة من العينات . وهذا الوضع يجعل التحليل المناعي ملائما لاجراض تسجيل المبيدات وكذلك اختبارات النوعية ومطابقة المواصفات القياسية وتقدير المخلفات عندما يكون هناك شك في وجود المركب . وعندما تستخدم الطرق التقليدية للتأكيد تفيد طريقة التحليل المناعي لتقليل السلبية . وفي هذا المقام تطوير طريقة لتحليل مبيد الحشائش المولينيت " molinate " حيث ان هذا المركب مفيد جدا في زراعات الارز ولكن اذا انفرد قبل الميعاد المطلوب سيؤدى الى قتل الاسماك . وساعدت هذه الطريقة في تقييم ديناميكية وحركية المولينيت في زراعات الارز بالرغم من العديد من العينات المطلوب تحليلها لتحقيق هدف الدراسة . ويوضح الشكل IC امكانية اضافة الماء المأخوذ من حقول الارز الى انابيب التحليل المناعي مما يمكن من تقدير درجات انفرد المولينيت في الماء . وتوضح هذه النتائج امكانية تطوير طريقة التحليل المناعي لتقدير المركبات الصغيرة الحجم والمتطايرة والغير ثابتة . والتكنيك يطور بعد الاستخلاص بما يحقق حساسية عالية للكشف عن المخلفات . ولتحقيق التكامل او التنسيق بين استخدام المبيدات مع الاعتبارات الاجتماعية يصبح من الأهمية تطوير هذه الملحقات markers لتقدير التلوث البيئي بمستويات معينة من الملوثات . وتحليل وجود مبيدات الحشائش الذائبة في الماء مثل الثيوكارامات وال 2, 4-D ومركب 2, 4, 5-T ذات اهمية خاصة في برامج استكشاف تلوث الماء السطحي بينما التحليل السريع للتريازين ومركبات الاستايتيليدات تعتبر مهمة في برامج استكشاف تلوث الماء الارضي .

* التحليل السريع او / و الميداني Rapid and /or field analysis :

تكلمنا قبلا عن امكانية احلال طريقة التحليل المناعي محل الطرق التقليدية فى تقدير المبيدات ونشير هنا الى ان هناك العديد من الاستخدامات لا تجرى بدقة الا بطريقة التحليل المناعي . وعلى سبيل المثال تقدير المولينييت يجرى بصورة سريعة جدا فى الحقل دون الحاجة لاية اجهزة او القليل فقط وهذا يمكن الفلاحون ومسؤولي الزراعة من الكشف عن آثار هذا المبيد فى المياه قبل الصرف . ويفيد هنا التكنيك كذلك فى التأكد من وجود الكيمائيات السامة قبل معاودة دخولها او لاستكشاف الانتشار . وهذا الاسلوب فى غاية الاهمية خاصة مع المركبات شديدة السمية مثل الباراكوات والباراثيون . ومن الفوائد الاخرى الكشف عن وجود المبيد قبل زراعة النباتات الحساسة للتشوهات بمبيدات الحشائش المعينة كما فى حالة الترازينات وكذلك السلفونيل يوريا . ويمكن للفلاحون استخدام هذا التكنيك للكشف عن الادوية البيطرية ومسببات الامراض الحيوانية والنباتية والمبيدات . وهذا يقدم لإجهاه جديد فى مفهوم تحليل المخلفات باستغلال الامكانيات التى توفرها التكنولوجيا فى المكان الميداني (الحقل) حيث التلوث . كما يقوم بها الفلاحون . وهذا الاسلوب مهم جدا لتجار الجملة حيث يهمهم إثبات ان المخلفات السامة فى المحاصيل قليلة للغاية ونفس الشئ لتجار المبيدات المشتركة فى برامج الاشراف على امان المخلفات .

* تحليل نواتج بحوث التكنولوجيا الحيوية

Analysis of products from research in biotechnology

حتى وقت قريب كانت معظم المركبات التى تستخدم فى البيئة ولا سباب اقتصادية عبارة عن جزيئات صغيرة نسبيا ذات تركيبات بسيطة . والتكنولوجيا الحيوية وبالتأكيد سوف تغير من هذا الوضع . وعلى سبيل المثال انتجت تكنولوجيا التخمر مركبى الأفيرميكتين Ivermectin والافيرميكتين Ivermectin بينما التوكسين الخارجى من بكتريا الياسيلس ثيورينجينسيز لم يؤخذ بعين الاعتبار فى المستحضرات الحالية . وهذه المواد شديدة التعقيد بدرجة تفوق المركبات العادية التى يمكن تحليلها باجهزة الكروماتوجرافى GLC أو HPLC . وبالتأكيد يمكن تحليل هذه المركبات بالوسائل التقليدية ولكن اسلوب التحليل المناعي يقدم مميزات كثيرة لتحليل هذه الجزيئات الضخمة والمعقدة .

الاهتمام العام فى المستقبل القريب لن يقتصر على نواتج التخمر ولكنه سيتعدى ذلك ليشمل المواد الناتجة من الهندسة الوراثية . ومن المؤكد ان معظم المركبات محل العناية ستكون تابعة للبيبتيدات والبروتينات . ولعل هذه المركبات تكون طرق التحليل المناعي غير باهرة الفائدة . وفى العام الاخير امكن الكشف عن البروتين السام الذى تفرزه بكتريا BT فى النباتات . وما زالت شركة Monsanto تحاول اختبار نفس السم فى الحقل باستخدام انواع قريبة من هذه البكتريا . وتمكن الباحث فى جامعة كاليفورنيا من تطوير طريقة تحليل مناعى للمولوات التوكسين الخاص

بسلالات BT الاسرائيلية ، وهذه الطرق تصلح للكشف عن جودة الانتاج ويمكن تحويلها لتقدير مخلفات المبيدات . وفي حالة ما اذا انفردت جينات غريبة في البيئة يمكن بطرق التحليل المناعي الكشف عنها او نواتج تفاعلها مع البيئة ، وهذا يؤكد ان هذه الطريقة تعتبر مكتملة للوسائل الوراثية التي تختص بالكشف عن الجين الحقيقي مما يزيد من فرصة نجاح منتجات الهندسة الوراثية . وما لا شك فيه ان وسائل التحليل المناعي ستكون متوفرة وعلى الوكالات المعنية الوصول لكيفية استخدام هذا الاسلوب في الكيمياء البيئية وكيفية اجراء تجارب ارشادية وتحقيق القبول الرسمي لهذه الطرق . ومن ثم يمكن تمثيل التحليل المناعي على انه حلقة متكاملة حيث لا يساهم الحصول على نواتج فعالة من التكنولوجيا الحيوية فقط وانما يساهم في الكشف عن هذه المركبات ايضا .

* التوصيات Recommendations :

بالرغم من ان كيمياء المناعة ليست دواء لجميع الامراض اذا جاز التعبير Panacea الا انه لسوء الحظ انها لم تستخدم على نطاق واسع في كيمياء البيئة خلال العشريين عاما الاخيرة . ومن المهم الاشارة الى اهمية ادخال هذه التكنولوجيا في القطاعين العام والخاص . وهناك العديد من الشركات الخاصة الصغيرة تستثمر هذه التكنولوجيا وسوف تحقق دورا في ادخال واستعمال الطريقة في مجال مبيدات الآفات . واذا ما نجح التكنيك بكفاءة عالية يصبح في الامكان تعميم الطريقة وانتشارها في التحليلات الكيميائية .

* صلاحية التحليل بالمناعة Validation of immunoassays :

لكي تلقى طريقة التحليل بالمناعة القبول كطريقة تحليل يجب معاملتها في البداية كما تعامل الطرق الاخرى وتقارن كفاءتها باى طريقة معروفة ومتداولة ، ومن الاهمية التأكيد من مقدرة هذه الطريقة على التقدير الكمي وليس النوعي فقط . ولم تجرى هذه المقارنات للتأكد من صلاحية الطريقة لتقدير اى مركب من المبيدات حتى الآن . ولقد وجد Wie and Hammock (١٩٨٢) ان الفرق بين طريقة التحليل المناعي وتلك التي اجريت بالـ Elisa لمركب الدايفلوبيزيرون (٣) و ٥ على التوالي) ، كما تناول تأثير المادة الحيوية على التحليل المناعي . والآن توجد مقارنات بين كفاءة هذه الطريقة والطرق التقليدية الاخرى في مجال المبيدات الفطرية ، ومثال ذلك مركبات البينونيميل والميتاليكسيل والترايديمفون . ولقد اشار Emon ومعاونوه (١٩٨٦) الى ان الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC والطرق اللونية لتقدير مبيد الباراكوات لا تختلف في كفاءتها عن التحليل المناعي مع عينات التحليل الخاصة بتعرض العمال للمبيد ، بينما اشار Sedwable وآخرون (١٩٨٤) الى العلاقة الجيدة بين التحليل المناعي الانزيمى والتحليل المناعي الفلورىنى مع مبيد الحشائش الدايكوفوب - ميشال . ويجب ان توجه الجهود للكشف عن مميزات تكنيك التحليل المناعي وتوضيح اهميتها في الكشف عن المركبات البيولوجية وتلك الناتجة من الهندسة الوراثية والتي لا يوجد لها طرق تحليل طبيعية .

* ادخال التحليل المناعي معامل التحليل

Intorduction of Immunassays in the analytical laboratory

يجب ان يكون لدى الوكالات المعنية بمراقبة المبيدات ومنتجات هذه الكيمياءيات خبراء فى مجال كيمياء المناعة اذا كان عليهم تقييم طرق التحليل المتاحة فى الهيئات الأكاديمية والقطاع الخاص . ويجب ان يعمل الخبراء بروح واسلوب الجماعة وتختفى من مفهومهم اية نزعات فردية . وعلى بعض هؤلاء الخبراء تفهم مشاكل المراقبة والتحليل الروتينى التى تواجه اى مركب بينما يتولى الآخرون مسئولية ادخال التكنولوجيا الحيوية فى الكيمياء . وبعض التوكسينات يسهل ارتباطها بالبروتينات بغرض التحليل ويقوم فريق ثالث بمهمة تدليل صعوبات التوافق الكيمياءية وابتكار نواحي جديدة . وهناك هدف هام ومحدد يتمثل فى دراسات تحديد المواقع المتخصصة للارتباط بالجسم المضاد . والمطلوب إجراء العديد من الاختبارات او الاقتربات عالية التكلفة للفرقة بين صلاحية وكفاءة العديد من مضادات السيرم لتطوير طريقة تحليل مناسبة ومفيدة عندما تستطيع الكيمياء قليلة التكاليف حل المشاكل الداخلية . ومن هنا يتأخر وقت الحصول على طريقة تحليل مناعى مناسبة لوقت طويل نظرا للحاجة لتصميم وتخليق الهيباتين المناسب haptens . ولو امكن تطوير هذه الاتجاهات فى المراحل المبكرة من تطوير المركب (المبيد) يصبح من السهل توفير الهيباتينات كمواد وسيطة مخففة قياسية على صور مشابهات أو ممثلات .

ويعتبر الجسم المضاد antibody المكون المحدد للتحليل بالمناعة Immunoassay بصرف النظر عن التصميم . ومن المثير للدهشة انه فى المراحل المبكرة من هذا البرنامج كان الهدف هو انتاج الاجسام المضادة ، وقد تركزت كل الجهود فى هذا السبيل . فلو امكن تجهيز الهيباتين Hapten الانتيجين Antigen بعناية يصبح من الممكن انتاج الاجسام المضادة بسهولة وبسر بواسطة العديد من الشركات المعنية بكيمياء المناعة دون اى فقد فى النوعية . وكما نوقش فى البداية بواسطة Hammock & Mumma عام ١٩٨٠ اتفق على ان الاجسام المضادة المتعددة الرجفان Poly clonal اكثر ملائمة وافضل من الاجسام وحيدة الرجفان Monoclonal للعديد من التقديرات . وفى الماضى اعطت الاجسام المضادة المتعددة من الارانب طريقة تحليل اكثر حساسية مما اعطته طريقة الاجسام الوحيدة من الغنم ، وليس هناك ضمان من ان الاجسام الوحيدة تعطى اختبار اكثر تخصصا .

وليس هناك شك فى ان تكنولوجيا التهجين Hybridoma متسود مجال التحليل بالمناعة فى السنوات القليلة القادمة للاسباب التجارية والعملية . وهناك مشاكل تحليل البيتيدات العديدة المسؤولة عن احداث السمية من بكتريا الباسيلس ثيورينجينيز حيث لا مفر من تكنولوجيا التهجين . ولقد تناقصت تكلفة انتاج الاجسام المضادة الوحيدة بسرعة خاصة فى العامل التى تأخذ فى الاعتبار اقتصاديات العملية . ولقد اجرى استخدام العديد من السلالات المختلفة وراثيا من الفئران لابتداء المناعة وكان ذلك متبوعا بفرقة السيرم الخاص وادى هذا الاسلوب الى اثبات انه فى بعض الحالات كانت الاجسام المضادة الوحيدة اكثر حساسية من المتعددة .

وقبل اتخاذ قرار استخدام هذا التكنيك يصبح لازما على الباحث تقدير مدى الحاجة للجسم المضاد الاحادى وعليه ان يطور طريقة غريطة سريعة لعزل الاجسام المطلوبة والتخلص من الغير مرغوبة . وعلى الباحث كذلك ان يتأكد من ان الأهمية الكبيرة القوية للتهجين تكنولوجيا تكمن فى تحقيق انتيسيرا متميزة .

وكما هو معروف فان الهيبوتينات والليجانندس والاجسام المضادة تمثل الجواهر الكشافة للتحليل بالمناعة ولكنها يجب ان تتألف فى طريقة تحليل . وهناك طرق عديدة ذات تركيبات مختلفة ولكن تزييف هذا التحليل يحتاج لبراعة فنية وخداع والفنيون اللذين يقومون بهذا العمل من الضروري ان يكونوا من العاملين فى معامل التحليل التى تتناول هذه الطريقة . لأن هذا التكنيك يجب ان يستخدم فى مشاكل تحليل حقيقية . فى مراحل التطوير والتطبيق يمكن للفنى الخير العمل فى النواحي التشخيصية الاكلينيكية مع ان المواد فى مجال التحليل والعوامل المحددة له تختلف كثيرا . لذلك يمكن تدريب المشتغل بكيمياء البيئة على اسلوب التحليل بالمناعة او يجرى تنسيق بين فردين يعملان بهذين الفرعين منفردين .

استراتيجيات اخذ العينات وطرق التنظيف وتداول النتائج وايا من العوامل الاخرى فى الكيمياء التحليلية لها نفس الاساس سواء استخدم تكنيك GLC-MS أو التحليل بالمناعة والكيميائى المختص بالتحليل يعتبر غير ضمان لنجاح التحليل بالمناعة .

* اختيار المركبات الاولى للتحليل

Selection of initial compounds for analysis

عند ادخال اية تكنولوجيا جديدة يكون من الاهمية بنجاح الاستخدام الاولى لهذه التكنولوجيا . لذلك فان الاختيار للمشكلة الاولى التى تتناولها طريقة التحليل بالمناعة من اهم العوامل المحددة . ومن الطبيعى ان عملية الاختيار تختلف من شركة او وكالة اخرى ومع هذا نظل المعايير عامة مأخوذة فى الاعتبار . والمركب يجب ان يكون متوسط الذوبان فى الماء على الاقل ولا يجب ان يكون معروفا عنه الالتصاق او المسك على السطوح او مواد التحليل . والمركب يجب الا يكون متطاير وثابت فى الماء . وعلى الشخص المسئول عن التحليل الامام بالمواصفات الطبيعية والكيميائية وعلى الاقل يسهل تداول مادة او وسط واحد من اوساط التحليل .

وبالتأكيد يجب ان يمثل المركب اهمية للباحث وليس ان يمثل اهم مشكلة من المشاكل التى تواجه الفريق البحثى . ويجب ان يكون عدد التحليلات للمركب الواحد كبيرا . اذا كان من الممكن ان تستخدم بيانات التحليل اولا فى داخل المعمل الذى تحصل عليها يمكن تجنب الاحباط والتأخير فى قبول التكنيك فى الوكالات الخارجية . ولدراسة صلاحية الطريقة الجديدة يجب ان يكون هناك طرق تقليدية جيدة ومعترف بها للمركب نفسه . ومن حسن الحظ ان العديد من الجهات والمعامل فى المجالات الصناعية وغيرها أصبحت تستجيب لأصداء هذا التكنيك الجديد .

References قائمة المراجع

- 1 . B.D. Hammock and R. O. Mumma, Recent Advances in Pesticide Analytical Methodology, p. 321. American Chemical Society Publications, Wahsington D. C. (1980).
- 2 . S. I. Wie. A. P. Sylwester, K. D. Wing and B. D. hammock. J. Agric. Food Chem. 30, 943-948 (1982).
- 3 . S. I. Wie and B. D. hammock, J. Agric. food Chem. 30, 949-957 (1982).
- 4 . S. I. Wie and B. D. hammock, J. Agric. food Chem. 32, 1294-1301 (1984).
- 5 . M. M. kelley, E. W. Zahnow, W. C. petersen and S. T. Toy, J. Argic. Food Chem. 33,k 962-965 (1985).
- 6 . A. I. Aronson, W. Beckman and P. Dunn, Microbiol, Rev. 50, 1-24 (1986).
- 7 . J. J. langone and H. Van Vunakis, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 10, 163-1717 (1975).
- 8 . S. I. Wie and B. D. Hammock, Anal. Biochem. 125, 168-176 (1982).
- 9 . K. D. Wing. B. D. Hammock and D. A. Wustner, J. Agric. Food Chem. 26, 1328-1333 (1978).
10. K. D. Wing and B. D.-Hammock, Experientia 35, 1619-1620 (1979).
11. J. Van Emon, B. D. hammock and J. N. sEiber, Anal. Chem., 58 : 1866-1873 (1986).
12. D. Fatori and W. M. hunter, Clin. Chim. Acta 100, 81-90 (1980).
13. T. Levitt, Lancet 8033, 358 (1977).
14. Z. Niewola, S. T. Walsh and G. E. Davies. Int. J. Immunopharmac. 5, 211-218 (1983).
15. D. F. rinder and J. R. Fleeker, Bull. Environ. contam. Toxicol. 26, 375-380 (1981).
16. S. J. Huber and B. Hock, Z. Pflanzenkrankh, Pflanzenschutz 92, 147-156 (1985).
17. C. D. Ercegovich, R. P. Vallejo. dR. R. Gettig. L. Woods, E. R. Bogus and R. O. Mumma, J, Agric, Food Chem, 29, 559-563 (19981).

18. R. P. Vallejo, E. R. Bogus and R. O. Mumma, *J. Agric. Food Chem.* 30, 572-580 (1982)
19. K. W. Hunter and D. E. Lenz. *Life Sci.* 30, 355-361 (1982).
20. A. A. Brimfield, D. E. Lenz, C. Graham and K.W. Hunter, Jr., *J. Agric. Food Chem.* 33, 1237-1242 (1985).
21. S. I. Wie, R. E. Andrews, Jr., B. D. Hammock, R. M. Faust and L. A. Bulla, Jr., *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 891-894 (1982).
22. S. I. Wie, B. D. Hammock, S. S. Gill, E. Grate, R. E. Andrews, Jr., R. M. Faust, L. A. Bulla, Jr. and C. H. Schaefer, *J. Appl. Bacteriol.* 57, 447-454 (1984).
23. P. Y. K. Cheung and B. D. Hammock, *Current microbiol.* 12, 121-126 (1985).
24. P. Y. K. Cheung and B. D. Hammock, *Appl. environ. Microbiol.*, in press.
25. T. R. Roberts, *Trends Anal. Chem.* 4, 3-7 (1985).
26. J. M. Van Emon, J. N. Seiber and B. D. Hammock, *Bioregulators for Pest Control*. p. 307, American chemical Society Publications, Washington D. C. (1985).
27. W. H. Newsome and J. B. Shields, *J. Agric. Food Chem.* 29, 220-222 (1981).
28. W. H. Newsome, *J. Agric. Food Chem.* 33, 528-530 (1985).
29. W. H. Newsome, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 36, 9-14 (1986).
30. M. Schwalbe, E. Dorn and K. Beyermann, *J. Agric. Food Chem.* 32, 734-741 (1984).
31. J. Vinas, *Pure & Appl. Chem.* 57, 577-582 (1985).
32. R. M. Roe, P.Y.K. Cheung, B. D. hammock, D. Buster and A. R. Alford, *Bioregulators for Pest control*. p. 279, American Chemical Society publications, Washington D. C. (1985)

الفصل الثامن عشر

- التقييم المناهض للكيميائيات الزراعية :

- * مقدمة
- * الانجازات
- * المنتجات التجارية .
- * النقاط المثيرة للمشاكل .
- * الآفاق المستقبلية .
- * قائمة المراجع

التقييم المناعي للكيميائيات الزراعية

Immunological assays for Agrochemicals

مقدمة Introduction :

هناك حاجة ملحة لايجاد طرق بسيطة قليلة التكاليف ذات كفاءة عالية لتقدير الكيمياءات الزراعية وغيرها من المواد الغريبة نظرا لزيادة تكاليف التحليل وتعاطم دور الاعتبارات البيئية . وتقدم طرق التقدير المناعي هذه المطالب والمميزات . وتستخدم هذه الطرق بشكل روتيني في المعامل لتقدير الجزيئات الصغيرة كالهورمونات والادوية . ونظرا لبساطة الطرق المناعية اصبحت شائعة في عيادات الاطباء الخاصة والمكاتب والمنازل . وسنحاول في هذا المقال توضيح امكانية استخدام هذه الطرق في تحليل وتقدير الكيمياءات الزراعية (مبيدات الحشائش - المبيدات الحشرية - المضادات الحيوية المرحضات النباتية - المواد الغريبة) والطرق المتاحة على نطاق تجارى ومستقبل التنكيك .

ولا يختلف التقييم المناعي عن اى تفاعل كيميائى اخر . فالجوه الكشاف A يتفاعل مع البروتين B ليعطى المنتج AB . والبروتين B ما هو الا مادة مخلقة حيويا (الجسم المضاد) ذات خواص ارتباطية متميزة لارتباطها مع المادة A . تكوين الجسم المضاد عبارة عن عملية مزدوجة الاطوار . الاول يشمل الجزيء الصغير الذى يقدر (الهابتين Hapten) يثبت بجزيئ المناعة الاكبر كثيرا بمادة البروتين . والناجى يحقن فى عائل حيوانى الذى حمل استجابة مناعية تتمثل فى تخليق اجسام مضادة ذات صفات مختلفة (متعددة الانقسام) بعضها موجهة ضد الهابتين . وفى المقابل يمكن تطوير جسم مضاد وحيد الأوجه monoclonal متخصص باستخدام مزرعة خلايا فى الخارج In vitro مع طريقة الانتشار . والاجسام المضادة عبارة عن مواد عالية الدوام مما يمكنها من اظهار النشاط حتى بعد فترات طويلة من التخزين . ومن اول طرق التقييم المناعي للكيمياءات الزراعية تلك التى طورها Langone and vunakis عام ١٩٧٥ لمبيد الديلدرين . ولقد اختبر حديثا الجسم المضاد للديلدرين واثبت ارتباطا قويا مع الديلدرين بعد ١١ سنة من التخزين (المرجع الثالث) .

وبالرغم من ان طرق التحليل تختلف فيما بينها الا ان كل طريقة تتميز بتكوين معقد خاص من الهابتين مع الجسم المضاد . وهذا يمكن التأكد منه بقياس الانواع او المركبات الغير متفاعلة بدرجة تعتمد على تصميم التقييم . وبذلك يتضمن التقييم المناعي خطوتان : تخمين اولى للجسم المضاد مع المركب الكيميائى تحت الاختبار متبوعا بتفاعل ثائى لتقدير درجة تكون المركب الابتدائى . والتقييم المناعي المشع (RIA) يتضمن ادخال المادة المشعة (الايدروجين ٣ ، الكربون ١٤ ، اليود ١٢٥) فى الجوه الكشاف للمماثل تماما للهابتين مما يمكن ويسهل من تقديره كمي . ومن الممكن استخدام التقييم المناعي الانزيمى المندمج مع الجسم المضاد المشع حيث يرتبط الانزيم مع الاجسام المضادة الموجهة ضد الهابتسين . والانزيمات البيروكسيديز Horseradish

والفوسفاتيز القلوى من أكثر الانزيمات استخداما حيث ترتبط مع الجسم المضاد الثانى . والاجسام المضادة للهابتين Anti-hapten التى لم ترتبط بعد التحضين مع العينة مسموح لها ان تكون معقد مع الهابتين وتحول الى حامل بروتينى يدمج على وسط صلب (تقييم غير متجانس) . ودرجة هذا الارتباط تقدر بالاضافة المتتابعة لمعقد الانزيم مع مضاد الجلوبيولين المعلم والوسط الملون ثم يقدر ناتج التفاعل بطريقة سيكتروفوتومترية ضوئية . ويطلق على هذا النوع من التقييم بالـ *ELI-sa* اى بطريقة التقييم الانزيمى المرتبط بالمناعة وهى تتطلب فى الغالب ٢٤ ساعة لاعطاء بيانات كمية . اما الطرق الوصفية الغير متجانسة تستغرق عدة دقائق فقط . وحديثا امكن تطوير طرق تقييم متجانسة للكيميائيات الزراعية تتطلب عدة نواتى قليلة لاتمام التقدير .

: الانجازات Accomplishments :

لتوضيح الانجازات بكفى ان نشير وباختصار الى البحوث المنشورة وستأكد القارئ مدى الانجازات العظيمة فى صناعة الكيمياء الزراعية ولكن هذه النجاحات لم وربما لن تنشر . والجدول رقم (١) يوضح الكيمياء التى طور لها تكتيك التقييم المناعى موضعنا فيه الحدود الدنيا للتقدير ونوع الجسم المضاد وطريقة التحليل ومصدر المرجع فيتضمن الجدول العديد من الهرمونات النباتية والمادة الغريبة دايوكسين وجميع هذه المواد ذات اهمية زراعية .

وهناك اعتبارات هامة فيما يتعلق بمستويات المضادات الحيوية التى قد توجد فى اللحوم والمنتجات الغذائية . والمضادات الحيوية يصعب تقديرها بالوسائل الكلاسيكية وقد امكن تطوير طرق تقييم مناعى لعدد من المنتجات (جدول ٢) ولقد قامت بعض الشركات بعمل طرق لبعض المضادات الحيوية التى تنتجها وسهلت من مهمة استخدام هذه الطرق على النطاق المنزلى والآن يتوفر فى الاسواق العديد من مجموعات التشخيص على النطاق التجارى . ومن المعروف ان الممرضات النباتية تسبب خسارة كبيرة تقدر بملايين الدولارات ومن هنا تتمثل اهمية الكشف المبكر وتعريف هذه المسببات فى اتخاذ القرارات الخاصة بالسيطرة على الآفات IPM (. والمسببات المرضية ذات بروتينات متميزة المواصفات و / أو تركيبات انتيجينية خاصة يمكن تقديرها خلال الطرق المناعية والجدول (٣) يوضح بعض المسببات المرضية التى تم تطوير تقييم مناعى لها .

: المنتجات التجارية Commercial products :

اظهرت العديد من الشركات اهتماما كبيرا بالتشخيص المناعى ولكن قليل منها تمكن من تطوير منتجات تجارية فى هذا المجال . ومن الواضح ان المؤسسات الصناعية تفضل ايجاد طرق تقييم مناعى للمركبات التى تنتجها ويكون استخدامها قاصرا على المهام الداخلية فى الشركات المنتجة ومن المؤسف عدم وجود رغبة لديها لتسويق المنتجات التشخيصية . وفى الوقت الحالى قامت شركتان بتسويق مجاميع اختبار بينما الشركات الاخرى تقوم بتطويرها .

وتقوم شركة Idetek, Inc. في سان برونو بالولايات المتحدة الأمريكية بتسويق الاجسام المضادة الوحيدة "monoclonal" لتقدير الكمى لبعض الهرمونات النباتية مثل الاندول - ٣ - اسيتيك أسيد ميثيل استر ، حامض الابسيسيك ، وريوسيد الزياتين ، الديهدرو زياتين ريوسيد (المرجع رقم ٧) . وهذه الطرق الانزيمية المناعية Elisa تتمكن من تقدير كميات فى حدود ٠.٢ - ٠.٥ مول / ١ ، مليلتر للمركبات الثلاثة الاخيرة . اما المركب اندول - ٣ - آسيتيك أسيد ميثيل استر يقدر فى حدود ٥ - ١٠٠ مول / ١ مليلتر . وفى هذا الخصوص لا يرتبط الجسم المضاد بالحامض الحر ولكنه يرتبط فقط بالاستر . وهذا الجسم للمضاد الوحيد الأوجه لا يتميز بدرجة عالية من التخصص لحلقة الاندول ولكن يبدو ان لها ميل تخصصى للسلسلة والقنطرة التى تربط البروتين الحامل مع الهابتين .

ولقد قامت مؤسسة Granite Division-Environmental Diagnostics Inc. فى ولاية برلنجون بامريكا بتسويق وحدات اختبار للكشف عن الكيمياءات الزراعية على صورة شرائط سريعة Quick-cards مع الجواهر الكاشفة (الجسم المضاد والاوراط اللازمة للانزيم) . وتحتوى الشرائط على جوهر كشاف يغير اللون فى حالة وجود المركب الكيميائى تحت الاختبار . وهذا الاسلوب يتطلب عدة دقائق فقط ويعتبر شبه كمى Semi-quantitative ويوضح ما اذا كانت العينة تحتوى على مستوى اعلى من الحد المعين وليس كميته بالضبط . ونظر لبساطة وثبات طريقة الشرائط يمكن استخدامها بشكل واسع لاختبار الكشف الروتينى على عدد كبير من العينات . وفى الوقت الحالى توجد هذه الشرائط فى الاسواق للكشف عن المبيدات الباراكوات والباراثيون وكذلك عن ستة مضادات حيوية (كلورامفينيكول - جنتاميسين - نيومايسين - سلفا ميثازين - سلفا داي ميثوكسين والتيلوسين) وكذلك الترايتون اكس - الافلاتوكسين وصلصة فول الصويا .

وبالرغم من ان مؤسسة Immunosystems Inc. بولاية بدفورد بامريكا لم تسوق بعد من المنتج الخاص بها الا انها طورت طرق تقييم مناعية متماثلة للعديد من الكيمياءات الزراعية (مراجع ٣) . وتعتمد هذه الطرق على التكنيك المعروف EMIT الذى يقيس تأثير ارتباط الجسم المضاد على نشاط الانزيم (جلوكوز - ٦ فوسفات ديهيدروجينيز) المرتبط بروابط مع الهابتين . عندما يرتبط الجسم المضاد بمعقد الانزيم والهابتين يحدث تناقص لمعدل التفاعل الانزيمى بدرجة تتناسب مع كمية الارتباط . ولو حدث تخفيض لتجهيز الجسم المضاد فى البداية مع العينة المختوة على المركب الكيميائى سوف يحدث ارتباط لبعض الاجسام المضادة بالهابتين الحر ومن ثم يصعب بعيدا عن متناول الارتباط بمعقد الانزيم والهابتين . وفى هذا الاسلوب يمكن قياس تركيز المادة الزراعية الموجودة فى العينة . والتحليل يتم فى غاية السرعة (١٥ - ٤٥ ثانية) كما ان له القدرة على تكرار تمثيل النتائج Reproducible ، كما انه يمكن من التغلب على بعض المشاكل الصعبة فى عمليات التحليل مثل الارتباط بالجدر والغسيل المرتبطة بطرق التقييم الغير متجانسة . وحيث ان تكنيك EMIT تتطلب توفر اسبكتروفوتومتر لتقدير معدل التفاعل فان جميع الخطوات تقريبا تكون آلية .

وهناك العديد من مجموعات التقييم او التشخيص المناعي لعدد من الممرضات النباتية تحت التطوير . وهذه المواد لم تصمم بهدف البحث العلمى ولكنها استهدفت الاسهام فى الصناعات الخاصة بالبستنة والحشائش النجيلية والفاكهة . ولقد قامت مؤسسة التشخيص الزراعية dianostics Agri- Assoc. بالولايات المتحدة الامريكية وحدات متكاملة للكشف عن ثلاثة مسببات مرضية لأعشاب وحلبيات السباق هي فطريات البياض واللفحة والتبقع البنى عن طريق تطوير اسلوب الانزيم المناعى Elisa والاجسام المضادة وحيدة الأوجه . ولو تضافرت أنشطة ومجهودات الشركات فى تسويق هذه المنتجات لأصبح واضحا وملموسا تواجد طرق سريعة للكشف عن مسببات المرضية .

النقاط المثيرة للمشاكل : Problem areas

يتطلب تطوير الاجسام المضادة المتخصصة مع الهيباتين خطوتان رئيسيتان : الاولى يتمثل فى الازدواج Coupling للجزئ الحامل للاتيجين بالهيباتين من خلال القنطرة ، والثانى نظام حقن الحيوان لزرع الاجسام المضادة . وكلا الخطوتان قد يختلفان فى مدى الملاءمة لانتاج الجسم المضاد ضد التناسق الجزئى الخاص . ومن الثابت ان بعض الجزئيات الحاملة للجينات المناعية (مثل البيومين سيرم اليقر - الهيموسيانين - والبيومين البيض) أكثر ملاءمة عن غيرها عندما ترتبط بالهيباتين الخاص المتميز . إن استخدام مجموعة القنطرة المتخصصة (التركيب الكيميائى - الطول والوضع الهندسي) التى تربط الهيباتين بالجزئ الحامل الاكبر تحدد التوجيه الخاص للهيباتين للمادة الحاملة ومن ثم يتأثر تنظيم وتمييز الجسم المضاد للهيباتين . والجسم المضاد للاندول آسيتيك آسيد على سبيل المثال تبدو ذات تخصص عالى لا ستر الميثيل عنه مع الحامض الحر موضحا ان تميز وتنظيم تركيب القنطرة فى غاية الاهمية . وفى بعض الحالات وخلال تطوير طريقة التقييم المناعى للنيوكسين فان الاجسام المضادة المتخصصة للقنطرة قد تزال بدون التأثير على التخصص للهيباتين . ان نظام وبروتوكول الحقن وعدد وحدات حقن المناعة ووقت جمع السيرم بعد الحقن تغير من حساسية وتخصص الاجسام المضادة .

التقييم المناعى الغير متجانس فى غاية التعقيد ويحتاج لوقت طويل ويختلف من فرد لآخر . وفى هذه الطرق يجب ان تدمص الجزئيات على وسط صلب عادة كريات البولى استيرين وصفائح المحجوم الدقيقة ، كما يجب ان تزود بالمواد الناشرة ، ان تستخدم بتركيزات مناسبة ، ان يسمح لها بالتفاعل خلال الفترات المحددة سلفا . ونظرا للعديد من الخطوات اليدوية والغير متجانسة فى المعامل فان النتائج قد تختلف . وحتى نستطيع مد زيادة كفاءة تكرار تمثيل النتائج وتقصير وقت التحليل لا نتوقع تطوير طرق مناعية على نطاق واسع هذا الخصوص .

يجب استغلال اسلوب الخلايا فى الخارج In vitro لانتاج الاجسام المضادة حيث ان تجهيز الجسم المضاد المتميز الخاص مطلوب لتوفير الوحدات التشخيصية على النطاق التجارى . حيوانات التجارب تنتج اجسام مضادة ذات تركيزات وتخصصية مختلفة خلال دورة المناعة . وعلى الجانب

الاخر انه بمجرد تطوير وعزل خط خلوى مناسب يصبح فى الامكان توفير كميات غير محدودة من الجسم المضاد كلما كانت هناك حاجة اليها . واستخدم التنكيك المضاد السيرم المتعدد التكاثر لا يجب ان يرفض ، وبدلا من ذلك يجب تقييم الاسلوب المتوفر لبيان اى مصدر من الاجسام المضادة يعطى افضل النتائج . والاجسام المضادة وحيدة الأوجه تحقق ثوابت منخفضة ومن ثم تكون غير مناسبة فى بعض التطبيقات .

ربما تكون الصعوبات التى تؤثر على تجارة الكيميكاليات الزراعية سببا فى اقتناع الصناعة باهمية تسويق الطرق التشخيصية للتقييم المناعى . وتطوير وحدات تجارية للاختبارات مكلفة جدا ولكن التقييم المناعى لن يصبح طريقة روتينية حتى تسوق هذه الوحدات تجاريا . ولسوء الحظ ان معظم طرق التقييم تطور فى المعامل الاكاديمية ولكنها لم تصل للمستوى التجارى .

الآفاق المستقبلية Future thrusts :

سنوضح فى هذا المقام رأينا الشخصى فى مستقبل طرق التقييم المناعى للكيميكاليات الزراعية بناء على تحفظاتنا السابقة . ونحن نتوقع توسع كبير لاشراك هذه الطرق فى المجالين الاكاديمى والصناعى للكشف عن الكيميكاليات ومسببات الامراض الاكثر حساسية فى البيئة وجميع الاطراف فى حاجة الى استخدام التقييم المناعى للتعامل مع المشاكل البيئية لتأكيد صلاحية هذه الطرق . ويزداد استخدام هذه الطريقة المدمجة مع الانزيم وكذلك الاعتماد على طريقة التقييم المتجانس نظرا لكفاءتها العالية فى تكرار تحقيق النتائج وقصر وقت اجرائها . ويمكن دمج وتكامل طريقة التقييم المناعى مع غيرها من طرق التحليل الاخرى . والاجسام المضادة المرتبطة بالمادة الحاملة المدعمة الصلبة يمكن استخدامها كاعمدة لتركيز المبيدات من الحجم الكبير من الماء . والمبيد قد يزاح ويقدر بالوسائل الكروماتوجرافية . كما ان الاعمدة الكبيرة يمكن ان تستخدم لتنقية الماء من الملوثات البيئية الغير مرغوبة . وربما ان احسن طريق لقبول الطريقة المناعية لتحليل المبيدات هو اثبات كفاءتها للكيميكاليون المعنيون بالتحليل فى اتجاه التأكيد على انها وسيلة مكتملة ومدعمة للطرق التقليدية المتاحة وليست بديلا لها .

نتوقع كذلك استخدام مكثف للاجسام المضادة وحيدة الأوجه وكذلك استخدام الاجهزة المختصة . استخدام التقييم المناعى يتطلب اجهزة بسيطة او لوحات الالوان خاصة فى الدول الاقل تقدما حيث ان هذه الدول تعاني نقصا فى الافراد المدربين وامكانيات التحليل بالمقارنة بالدول النامية . ومن ثم يصبح من المتوقع قبول التقييم المناعى نظرا لانخفاض التكلفة وسهولة اجراء العملية .

ولقد طورت طرق التقييم المناعى لتحليل توكسينات البكتريا من سلالات الباسيلس ثوريجينيسس التى تستخدم لمكافحة الحشرات التابعة لرتب حرشفية الاجنحة وذات الجناحين (المرجع ١٥) . ومازالت تحت الاختبار والتطوير مع المبيدات ذات الجزيئات النانجة من الاصول الحيوية . حيث ان هذه الجزيئات يصعب تقديرها بالطرق التقليدية مثل الكروماتوجرافى الغازى السائل ولكنها

تتلاءم تماما مع طرق التقييم المناعى . والطرق التكنولوجية الحيوية تسمح بادخال هذه التوكسينات فى النباتات وغيرها من الكائنات الحية . وستكون طريقة التقييم المناعى طريقة الاختبار للكشف عن هذه المركبات الجديدة وتقييم ضرر هذه الوسائل الحديثة .

مما لا شك فيه ان معامل التحليل مشغولة كثيرا بتقدير مستوى مخلفات الكيماويات الزراعية والمركبات الغريبة نظرا للحاجة الملحة من قبل العامة للتحكم فى مواصفات البيئة . ولسوء الحظ ان طرق التحليل الكلاسيكية مكلفة للغاية وتحتاج لوقت كبير ومحددة التطبيق فى عدد قليل من المعامل كما انها تتطلب اشخاص على درجة عالية من التدريب وتحتاج اجهزة عالية التطور . وعندما تصبح طريقة التقييم المناعى عملا روتينيا وسريعا وقليل التكاليف سنرى تزايد كبير فى تحليل عينات بيئية . وهذا التزايد مرهون بمدى اهتمام الوكالات المعنية بشئون البيئة بتطوير وتعميم اسلوب التقييم المناعى للكشف عن الملوثات المختلفة .

جدول (١) : الكيمياء الزراعية التي طور لها طرق التقييم الناعى

المرجع	الطريقة	مضاد السموم المتعدد	حدود التقدير	المادة الكيميائية
4	RIA	P	66 pg	Absciscic acid
5	ELISA	P	13 pg	
6	RIA	M	4 pg	
7	ELISA	M	5 pg	
3	EMIT	P	5 ng	Aldicarb
2	RIA	P	700 pg	Aldrin
8	ELISA	P	0.5 ng	Aflatoxin
9	Fluorometric	P	100 pg	2-aminobenzimidazole
10	ELISA	P	215 pg	Atrazine
11	ELISA	P	9.6 ng	BAY SIR8514
9	Fluorometric	P	0.1 ng	Benomyl
12	RIA	P	1.25 ng	
13, 14	Immunodiffusi	P	1 ng	S- bioallethrin
٥٥	ELI SA	P	0.5 ng	Bacillus thuringiensis
15	ELISA	105 ng ^a		subs. kurstaki
15	ELISA	P	220 ng ^a	subs. berliner
19	RIA	P	2 ng	2-(Chlorophenyl)- isovaleric acid
20	ELISA	P	0.1 ng	chlorsulfuron
21	---	---	---	Cypermethrin
22	RIA	P	13 ng ^a	2,4-D
3	EMIT	P	2.5 ng	
23	ELISA	P	20 ng	Diclofop-methyl
23	Flouorometric	P	10 ng	
2	RIA	P	150 pg	Dieldrin
3	EMIT	P	10 ng	
11	ELISA	P	3.9 ng	Diffubenzuron

(تابع جدول - ١)

المرجع	الطريقة	مضاد السموم المتعدد	حدود التقدير	المادة الكيميائية
7	ELISA	M	7 pg Dihydrozeati n	
24	RIA	P	4 ng	ribbosome Dimethylallyl- adenineribbosome
24	RIA	P	1 ng	Dioxin
25	RIA	P	25 pg	
26	ELISA	M	1 ng	
26	RIA	P	2 pg	Gibberellic acid
27	ELISA	P	0.01 ug	Gypsy moth nuclear polyhedrosis virus
28	RIA	P	200 pg	
29	RIA	P	94 pg	IAA methyl ester
30	ELISA	P	3 pg	
31	RUA	M	94 og	
31	ELISA	M	94 pg	
7	ELISA	M	200 pg	
32	ELISA	P	0.2 ng	
33	ELISA	M	6-100 ppb	Iprodione
34	ELISA	M	6 ppb	Maleic hydrazide
35	ELISA	P	63 pg	
12	RIA	P	125 ng	Metalaxyl
36	ELISA	P	275 ng	Methyl-2-benzimi- dazole carbamate
37	ELISA	M	1 ug	Paraoxon
38	RIA	P	10 ng, 0.1 ng	
39	RIA	P	0.5 ng	Paraquat
40	ELISA	P	0.1 ng	
41	RIA	P	4 ng	
43	ELISA	P	7.8 ng	Parathion
44	RIA	P	20 ng	
44	ELISA	P	20 ng	
8	ELISA	P	2.5 ng	

المادة الكيميائية	حدود التقدير	مضاد السموم المتعدد	الطريقة	المرجع
Penfluron	6.8 ng	P	ELISA	11
Permethrin	—	—	—	21
Soluble soy	10 ng	P	ELISA	8
Surflan	—	M	ELISA	45
Terbutryn	4.8 ng	P	ELISA	46
Triadimefon	1 ng	P	ELISA	47
2, 4, 5-T	3.3 ng ^a	P	RIA	22
Zeatin riboside	15 pg	P	RIA	48
	7 pg	M		7
Zeranol	100 pg	P	RIA	49

^a Sensitivity expressed as 1/50.

جدول (٢) : قائمة جزيئية بالمضادات الحيوية التي طور لها طرق التقييم المناعي .

المضاد الحيوى	حد التقدير	والوحيد	الطريقة	المرجع
Chloamphenicol	10 pg	P	RIA	50
	5 ng	P	ELISA	8
Gentamicin	10 ng	P	ELISA	8
Hygromycin 8	0.02 units	P	RIA	51
Neomycin	10 ng	P	ELISA	8
Penicillin G	—	—	—	52
Sulfadimethoxine	10 ng	P	ELISA	8
Sulfamethazin	10 ng	P	ELISA	8
Tylosin	10 ng	P	DELISA	8

جدول (٣) : قائمة جزيئة للمرضات النباتية التي طورت لها طرق التقييم المناعى .

المرض النباتى	المسبب المرضى	المرجع
53	Brown Patch	Rhizoctonia
53	Dollar Spot	Sclerotinia homoeocarpa
53	Pythium Blight	Pythium spp.
54	Tobacco Ringpot Virus	

قائمة المراجع

1. B. D. Hammock and R. O. Mumma, ACS Symposium Series 136, 321-352 (1980).
2. J. J. Langone and H. VanVunakis, Res. commun. Chem. Pathol. pharmacol. 10, 163-171 (1975).
3. B. S. Ferguson, Sixth Int. congress of Pesticide Chemistry, Poster Session (1986).
4. E. W. Weiler, Planta 144, 255-263 (1979).
5. E. W. Weiler, Physiol. Plant. 54, 510-514 (1982).
6. R. Mertens, B. Deus-Neumann and E. W. Weiler, FEBS Lett., 160, 269-272 (1983).
7. Idetek, Inc., San Bruno, CA 94066 USA.
8. Granite Division - Environmental Diagnostics, Inc., Burlington, NC, USA.
9. H. R. Lukens, G. B. Williams, S. A. Levinson, W. B. Dandliker and K. Murayama, Environ. Sci. Technol. 11, 292 (1977).
10. S. J. Huber, Chemosphere 14, 1795-1803 (1985).
11. S. I. Wie and B. D. Hammock, J. Agric. Food Chem. 30, 949-957 (1982), 32, 1294-1301 (1984).
12. W. H. Newsome and J. B. Shields, J. Agric. Food Chem. 29, 220-222 (1981).
13. K. D. Wing, B. D. hammock and D. A. Wustner, J. Agric. Food chem. 26, 1328-1333 (1978).
14. K. D. Wing and B. D. Hammock, Experientia 35, 1619-1620 (1979).

15. S. I. Wie, B. D. Hammock, S. S. Gill, E. Crate, R. E. Andrews, Jr., R. M. Faust, L. A. Bulla, Jr. and C. H. Schaefer, *J. Appl. Bacteriol.* 57, 447-454 (1984).
16. S. I. Wie, R. E. Andrews, Jr., B. D. Hammock, R. Faust and L. A. Bulla, Jr., *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 891-894 (1982).
17. P.Y.K. Cheung and B. D. hammock, *Current Microbiol.* 12, 121-126 (1985).
18. P.Y.K. Cheung and B. D. hammock, *Appl. Environ. Microbiol.*, in press.
19. M. M. Kelley, E. W. Zehnouw, W. C. Peterson and S. T. Toy, *J. Agric. Good Chem.* 33, 962-965 (1985).
20. J. Ohnishi, Y. Nishikawa, Y. Suzuki, T. Matsuda and J. Miyamoto, *Sixth Int. Congress of Pesticide Chemistry, Poster Session* (1986).
21. M. J. Wraith, E. J. Hitchings, A. P. Woodbridge, E. R. Cole and T. R. Roberts, *Sixth Int. congress of Pesticide Chemistry, Poster Session* (1986).
22. D. F. Rinder and J. R. Fleeker, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 26, 375-380 (1981).
23. M. Schwalbe, E. Dorn and K. Beyerman, *J. Agric. Food Chem.* 32, 734-741 (1984).
24. W. DeCreuf, N. Dekegel and R. Hjaers, *Arch. Internat. de Physiologie et Biochimie.* 88, B134-B135 (1980).
25. P. W. Albro, M. I. Luster, K. Chae, S. K. Chaudhary, G. Clark, L. D. Lawson, J. T. Corbett and J. D. McKinney, *toxicol. Appl. Pharmacol.* 50, 137-146 (1979).
26. E. W. Weiler and U. Wiczorek, *Planta* 152, 159-167 (1981).
27. M. Ma, J. K. Burkholder, R. E. Webb and H. T. Hsu, *J. Econ. Entomol.* 77, 637-540 (1984).
28. W. Pengelly and F. Meins, Jr., *Planta* 136, 173-180 (1977).
29. E. W. Weiler, *Planta* 153, 319-325 (1981).
30. E. W. Weiler, P. S. Jourdan and W. Conrad, *Planta*, 153, 561-571 (1981).
31. R. Mettens, J. Eberle, A. Arnscheidt and E.W. Weiler, *Planta* 166, 389-393 (1985).

32. W. H. Newsome and P. G. Collins, Sixth Int. Congress of Pesticide Chemistry Poster Session (1986).
33. Maryland Agric. Exp. Sta. Annual Report (1985) Regional Project NE-115.
34. R. O. Harrison, A. A. Brimfield, K. W. Hunter, Jr. and J. O. Nelson, Sixth Int. Congress of pesticide Chemistry, Poster Session (1986).
35. W. H. Newsome, J. Agric. Food Chem. 33, 528-530 (1985).
36. K. W. Hunter and D. E. Lenz, Life Sci. 30, 355-361 d(1982).
37. A. A. Brimfield, D. E. Lenz, C. Graham and K. W. Hunter, J. Agric. Food Chem. 33, 1237-1242 d(1985).
38. D. Fatori and W. M. Hunter, Clin. Chim. Acta 100, 81 (1980).
39. T. Levitt, Proc. Analyt. Div. Chem. Soc. 16, 72-76 (1979).
40. J. Van Emon, B. D. hammock and J. N. Sieber, Anal. Chem. 58, 1866-1873 (1986).
41. C. D. Erecegovich, R. P. Vallejo, R. R. Gettig, L. Woods, E. R. Bogus and R. O. Mumma, J. Agric. Food Chem. 29, 559-563 (1981).
42. R. P. Vallejo, E. R. Bogus and R. O. mumma, J. Agric. Food Chem. 30, 572-580 (1982).
43. A. Y. Al-Rubae, Ph. D. Thesis, The Pennsylvania State University (1978).
44. J. F. Brady, M. S. Thesis, The Pennsylvania State University (1984).
45. A. H. Kuniyuki and S. McCarthy, Sixth Int. Congress of Pesticide Chemistry, Poster Session (1986).
46. A. U. Humber and S. J. Hock, J. Plant Dis. Prot. 92, 147-156 (1985).
47. W. H. newsome, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 36, 9-14 (1986).
48. E. W. Weiler, Planta 149, 152-162 (1980).
49. J. P. Duchakel, Ann. Rech. Veterinaires 16, 93-97 (1985).
50. D. Arnold and A. Somogyl, J. Assoc. Off. anal. Chem. 68, 984-990 (1985).
51. M. A. Foglesong and D. S. LeFeber, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 65, 48-51 (1982).

52. P. Rohner and J. Nicolet, *J. Food Prot.* 48, 59-62 (1985).
53. AGRI-DIAGNOSTICS Assoc., cinnaminson, NJ, USA.
54. C. P. Romaine, S. R. Newhart and D. Anzola, *Phytopathol.* 71, 308-312 (1981).
55. J. Van Emon, J. N. Seiber and B. D. hammock, Sixth Int. Congress of Pesticide Chemistry Poster Session (1986).
56. M. Landerlaan, B. Watkins, R. Devivar and L. Stanker, Sixth int. Congress of pesticide Chemistry, Poster Session (1986).
57. P. W. Albro. K. Chae. M. Luster, J. D. McKinney, S. Chaudhary, G. Clark, J. Fawkes and J. Corbett, *Environ. Health Persp.* 20, 247 (1977).
58. B. D. Hammock, S. J. Gee, P. Y. K. Cheung, T. Miyamoto, M. H. Goo-drow and J. N. seiber, Sixth Int. congress of Pesticide Chemistry, Poster Session (1986).

الفصل التاسع عشر

--تقدير مركب ايروديون فى الاغذية باستخدام طريقة التحليل المناعى الانزيمى :

* المقدمة

* الطرق

* الجسم المناعى

* مضادات البلازما

* الحساسية Plate sensitization

* تحضير العينة

* بروتوكول التحليل المناعى

- التحليل الكروماتوجرافى .

* تحضير العينة .

* المموذ الكروماتوجرافى .

* GLC

* النتائج والمناقشة .

الفصل العشرون

- استخدام الأجسام المضادة وحيدة الاوجه للكشف عن اثار المواد الكيمائية :

* مقدمة

* استجابة المناعة

* الأجسام المضادة

تقدير مركب ايبيروديون فى الاغذية باستخدام طريقة التحليل المناعى الانزيمى

Determination of ipodione in foods by ELISA

لقد تم تطوير طريقة التحليل المناعى (ELISA) وهو اختصار يعنى استخدام الانزيم المرتبط بالجسم المناعى Enzyme-linked immunosorbent وهى طريقة وجد انها قادرة على تقدير المبيد الفطرى ايبيروديون فى مستخلص الايثيل اسيتات للأغذية وذلك بدون اجراء عملية تنقية . وذلك عندما تم اختيار ٤ سلع كل منهم يحتوى على مركب الايبيروديون فى حدود ١ - ١ مللجم/ كجم. ولقد لوحظ ان اقل نسبة استرجاع كانت ٧٨٦٪ كما انه لوحظ ان نسب الاسترجاع لها علاقة بطريقة التحليل باستخدام GLC التى تستخدم الكشاف من النوع N/P . ومن ناحية اخرى وجد ان نواتج التحلل المائى للايبيروديون يعاد ترتيبها بحيث تكون تفاعلات هذه النواتج متشابهة مع المركب الاصلى (الايبيروديون) . وبالنسبة للفاعلية فقد لوحظ ان المبيدات الفطرية مثل Vinclozolin و Procymidone والشبيهة بالايبيروديون كانت اكثر نشاطا بحوالى ٣,٥ الى ١٠ مرات عن الايبيروديون .

المقدمة Introduction :

ان مركب الايبيروديون عبارة عن مبيد فطرى بالملاسمة وقد تم تسجيله للاستخدام فى كندا على عدة محاصيل مختلفة . وقد تم نشر عدة طرق لتقدير متبقياته ، ومن هذه الطرق التقدير الكمي باستخدام GLC وذلك بعد اجراء التنقية على الفلوروسيل . وعند اتباع طريقة تحليل بديلة للطرق التقليدية فكان الاختيار على طريقة التحليل المناعى بسبب ما حدث بها من تطورات حيث انها طريقة تعتمد على التفاعلات الكيميائية الخاصة بالاجسام المناعية . وذلك لعدد من متبقيات المبيدات فى الاغذية وذلك مثل مركب diflubenzauron فى اللبن ومركب metalaxy فى الفاكهة ومركب dichlofop-methyl فى البنجر وفول الصويا .

ومند ان وجد ان هذه الطرق تشير الى امكانية التقدير المتخصص باستخدام اقل قدر من العينات ، فان هذا الاسلوب قد تم بحثه بغرض تقديمه وجعله فى صورة ميكانيكية لتحليل عدد كبير من العينات وبتكلفة قليلة .

الطرق Methods :

* الجسم المناعى Immunogen :

لقد تم ادماج المركب 1 - imidazo - 2,4 - dioxo - (3, 5-Dichlorophenyl) - 3 - line propionic acid مع بروتين بلازما الانسان وذلك باستخدام مركب 1- [3- (dimethyl)

aninopropyl)] - 3 - ethyl carbodiimide hydrochloride وذلك عند درجة ٦,٦ في منظم فوسفاتي 0.2 M .

* مضادات البلازما Antiserum :

لقد تم حقن ارناب بيضاء من النوع Newzealand بـ ٠,٥ مللجم جسم مناعي في ٠,٥ مل مستحلب مكون من المادة الاضافية Freund مع الـ Saline بنسبة ١ : ١ .

* الحساسية Plate sensitization :

لقد تم تحضير البروتين الحساس وذلك بتكثيف زلال البيض وذلك بخلطه بتفاعل لا مائي (Wie and Hammock) والمحلول المرتبط الناتج يؤخذ منه 4 mg/ml توضع مع 200 ML محلول منظم (بيكرونات) ذو درجة pH ٩,٥ . هذا الخليط يوضع على كل well من اللوح plate . ثم يتم تحضين اللوح على ٤° م لمدة ١٦ ساعة بعدها تغسل ٣ مرات بمحلول ٠,١ % من مادة Tween ٢٠ ثم تغسل مرتين بالماء المقطر . وتخزن على حرارة اقل من الصفر المئوي .

* تحضير العينة Sample preparation :

يتم اخذ عينة (١٠ جم) ويتم إستخلاصها وذلك بهرسها باستخدام ٤٠ مل من الايثيل اسيتات . ثم يتم ترشيحها وتجمد الحجم النهائي ٥٠ مل . ويؤخذ من ذلك المحلول ويتم وضعه في انبوبة اختبار زجاجية (١٢ × ٧٥ مم) وتجمد المحلول في صورة جافة بعدها يذاب الجزء الجاف في 25ul من DMSO .

: Immunoassay Protocol بروتوكول التحليل المناعي

يتم تخفيف بنسبة ١ : ٣٠٠٠ للمصل المضاد antiserum وذلك باستخدام جيلاتين ٠,١ % . ويؤخذ من هذا التخفيف ١ مل ويضاف للعينة . بعد ذلك تضاف في انبوبة اختبار تركيزات متدرجة من مركب iprodione القياسي والمخفف في 25ul من مذيب DMSO . هذه التركيزات تكون في حدود ٢ر ، ٤ر ، ٨ر ، ١,٦ر ، ٣,٢ر ، ١٢,٨ر تانوجرام ، ويتم تحضين الانابيب بعد ذلك على ٤° م لمدة ٣٠ دقيقة .

يؤخذ بعد ذلك 200UL وتضاف في صورة ٣ مكررات وذلك الى wells الموجودة على اللوح السابقة التحضير ، وبعد التحضين على ٤° م لمدة ساعة . يتم الغسيل ٣ مرات بمحلول ١ر % من مادة Tween20 . بعد ذلك يضاف 225 UL من المحلول المخفف بنسبة ١ : ١٠٠٠ من مادة Horseradis peroxidase والمعلم بـ anti-rabbit وبعد ٣٠ دقيقة على حرارة المعمل فان اللوح تغسل ثم يضاف 225 UL من مادة التفاعل وهي (O- phenylene diamine/hydrogen) ويتم إيقاف التفاعل بعد ١٥ دقيقة من الاضافة الاخيرة لمادة التفاعل وذلك باضافة soul من حمض الكبريتيك OSM . ويتم اخذ قراءة الكثافة الضوئية O.D. من جهاز قياس الالوان .

التحليل الكروماتوجرافي GLC :

* تحضير العينة Sample preparation :

ان مستخلص العينة والمخضر فى الايثيل اسيتات والذى تم تحضيره للعمل بطريقة ELISA فانه يتم تبخيره الى درجة الجفاف ثم يتم توزيعه بين ٢٥ مل ماء ، ٢٥ مل دايكلورو ميثان . بعد ذلك يتم الاستخلاص من الطبقة المائية مرة اخرى بـ ٢٥ مل من الدايكلورو ميثان ويتم جمع المستخلصين الاول والثانى ثم يتم تجفيفهم .

* العمود الكروماتوجرافي Column Chromatography :

يتم اخذ المستخلص الجاف بـ ١ ٥ مل دايكلورو ميثان ويتم التحليل الكروماتوجرافي على عمود طوله ١٨٠ سم $6 \times$ مم ومعبأ بـ ٩ جرام فلوروسيل مخلوط بالداى كلورو ميثان . مع ملاحظة انه اولاً يتم عملية اراحة العمود بـ ٢٠ مل من الداى كلورو ميثان والناجى يتم الاستغناء عنه ثم تتم اضافة الـ ٥ مل من المستخلص السابق للعمود وتتم الازاحة بـ ٢٥ مل من الايثيل اسيتات ٢ : ٨ فى الداى كلورو ميثان والناجى يؤخذ وتجرى له تجفيف والمتبقيات تذاب فى ٢ مل تولوين للتقدير بواسطة GLC .

: GLC

لقد تم استخدام جهاز Avarian والمتصل بكشاف من النواع N/P ذو درجة حرارة ٢٦٠° م وعمود الفصل كان بطول ٢٠ متر وقطر داخلى ٢٥ ر م ومعبأ بمادة السليكا المغلفة بـ ٢٥ ر وحدة من مادة DBS وتم حقن العينات بحجم IUL وكان معدل سرية الغازات كالاتى :

غاز الهيليوم ٣٣ سم / ثانية

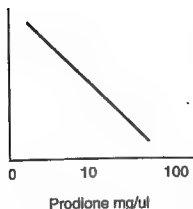
الهواء ١٧٥ مل / دقيقة

هيدروجين ٤,٥ مل / دقيقة

نتروجين ٣٠ مل / دقيقة

وتم حقن العينة على حرارة ١١٠ م وبعد ٤٥ ثانية تمت البرمجة للحقن على ٢٤٠ م ووجد ان وقت الجس هو ٥,٣ دقيقة .

النتائج والمناقشة :



فى شكل (١) نجد المنحنى القياسى والذى يوضح العلاقة الخطية بين لوغاريتم التركيز للمركب الايروديون وبين الكثافة الضوئية للـ wells بعد التفاعل الانزيمى . ووجد ان الميل يزداد من ١٧ ر - ٢٠ عندما تم استخدام البجلاتين بدلا من bovin serum albumin فى التخفيف مما يدل على حساسية التقييم . ووجد ان اقل حدود امكن الكشف عنها كانت ٠.٣ ر مللجم / كجم وذلك بناء على قيم الانحراف القياسى لنقط المنحنى القياسى .

شكل (١): المنحنى القياسى لمركب الايروديون بطريقة التحليل المناعى

ونسب الاسترجاع لعدة سلع قد تم تقديرها باستخدام 'ELISA و GLC وتم ادراجها فى جدول . وفى كل الاحوال باستثناء التقدير بالـ GLC من الفراولة . فان نسب الاسترجاع قد تجاوزت ٨٥ ٪ . ومع تكرار التجارب فى حالة عينات الطماطم عندما كانت تحتوى على ٥ ر مللجم / كجم فان قيمة معامل الاختلاف = ٧,٨ ٪ باستخدام ELISA مقارنة بقيمة ٣,٨ ٪ باستخدام GLC .

	mg/ml for $\frac{Y}{X} = 0.5$		
1	0.0	0.25	5
2	0.0	0.07	2
3	4.0	10.0	3
4	0.07	> 200	4
5	0.07	> 200	6

شكل (٢) يبين الاستجابات النسبية لعدة مركبات والشبيهة بالايروديون .

وقد تم تقدير الاستجابة بتطبيق قيم الكثافة الضوئية المتحصل عليها من التركيزات المختلفة من المركب مقابل لوغاريتم التركيز . فنجد ان المركب رقم (٢) ناجح تمثيل والمركب (٣) عبارة عن ناتج تحليل مائي . وكل منها يعطي استجابات متشابهة للايروديون . بينما مركب (٨) -3,5-dichloro aniline هو الاقل تنبيها للجسم المضاد ومركب (٩) شبيه بمركب (٨) بينما مركب (١٠) عبارة عن مبيد الحشائش diuron . ومركب (٦) هو مبيد vinclosolin ومركب (٧) هو مركب Procymidone . وهما لم يسجلا للاستخدام في كندا ولا يتوقع استعمالهم على المحاصيل المحلية . ولكن عند استخدام هذه المركبات الفطرية في البلاد الخارجية خاصة على محصول العنب فمن الممكن ان ينتج عن ذلك وجود متبقيات في السلع المستوردة والتي تعطي قيم ذات خطأ كبير عن محتوى هذه السلع من مبيد الايروديون والذي يقاس بطريقة ELISA . لذلك فلا بد من اجراء عملية غريبة لهذه الطريقة من خلال معنيتها واهميتها في تقييم المبيدات الفطرية الشبيهة التركيب .

استخدام الاجسام المضادة وحيدة الاوجه للكشف عن اثار المواد الكيميائية

Monoclonal antibodies for the detection of trace chemicals

ان المشاكل المصاحبة للتحليل الكيميائي باستخدام طرق الكروماتوجرافي التقليدية من الممكن ان تخمد الكشف عن اثار متبقيات المواد العضوية . فمن احدى هذه المشاكل مثلا نجد التكلفة والوقت المستهلك لتحليل كل عينة الامر الذي يعوق تحليل عدة عينات . الامر الذي يجب معه اجراء تطوير في الاساليب المتبعة وتغييرها . ومن احدى الطرق الحديثة هي طريقة التحليل المناعي Immunoassay (ويقصد بها استخدام طريقة المناعة) وذلك كاحدى الوسائل التي تقلل التكلفة وتمكن من تحليل عدة عينات في وقت واحد بطريقة اتونوماتيكية . ولقد تم ذلك التطور في العقد الماضي . وذلك باستخدام الاجسام المضادة من النوع Monoclonal والتي اقترحت كطريقة متخصصة ولها قدرة اختيارية عالية عن تلك الطريقة الاعتيادية والتي تعتمد على استخدام الامصال المضادة بالدم antisera .

وطريقة التحليل المناعي من الممكن تطويرها بحيث تكون سهلة الاستعمال وتكون في صورة وسيلة حقلية متقلة وتعطي نتائج سريعة ولها القدرة على الكشف عن المتبقيات في حدود تصل الى اقل من واحد جزء في البليون ، وهذا الموضوع يشمل الطرق المختلفة التي عملت على تطوير هذا الاسلوب وذلك من خلال الكشف عن جزيئات عضوية صغيرة وذلك باستخدام التحليل المناعي لمركب 2,3,7,8-TCOD (2,3,7,8-Tetrachlorodibenzodioxin) كمثال .

مقدمة Introduction :

لقد اتضح ان هناك عدد كبير من طرق التقييم المناعي للمبيدات هذه الطرق عبارة عن دراسات توضح ان الاجسام المضادة تستطيع ان تعمل على تكوين روابط مع مدى واسع من

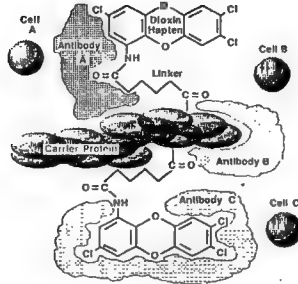
الجزيمات العضوية الصغيرة . وهى طريقة غاية فى الحساسية وتكلفتها قليلة وسريعة الكشف عن الملوثات . وطريقة التحليل المناعى تعتبر واضحة ومناسبة لتقدير المتبقيات كيميا ، وعندما يكون من الصعوبة استخدام طرق الكروماتوجرافى . كما فى حالة الباراكوات والسيبرمثرين أو عندما تكون المركبات المراد تحليلها معقدة وذات نواجى بيولوجية مشتقة مثل السموم الفطرية والافيرمكتين ، أو عندما يراد تقدير مشابه واحد فقط مثل dioxin و S-bioallethrin .

وهنا سيتم استخدام الاجسام المضادة لمركب dioxin كنموذج لتحليل متبقيات المبيدات . فمنذ عشرة سنوات شهود تطور رهيب فى استخدام طريقة التقييم المناعى Map وذلك بسبب ما تتمتع به من اختلافات متميزة عن الطرق الاعتيادية . وهى طريقة تختلف عن تلك التى تسمى Polyclonal antisera حيث انها غير مكلفة بالاضافة الى انها تستخدم كطريقة قياسية .

ان اختبارات الاجسام المضادة تعتمد على إستغلال الجهاز المناعى الطبيعى وما يتولد منه من استجابات فى صورة تكوين antigens . وفى شكل (١) يتضح المميزات العديدة لاستجابة الجهاز المناعى ، وفى حالة الجزيمات الصغيرة مثل dioxins فانه لا يستجيب لهذا الجسم المضاد اذا حقن بمفرده حيث انه لا بد من ارتباطه بجزئيات حاملة له وعادة ما تكون هذه الحوامل عبارة عن بروتين . ويجب ملاحظة انه يجب تحديد واختيار اماكن الارتباط وطبيعتها الكيميائية حيث ان لذلك تأثير على طبيعة انتاج الاجسام المضادة .

: استجابة المناعة Clonal nature of the immune response

ان الصفة الرئيسية لاستجابة المناعة للجسم المضاد هى ظاهرة الإفراز للاجسام المضادة . فنجد انه فى كل الفقاريات فانها تحتوى على خلايا ليمفية من النوع بيتا B وهذه الخلايا تعتبر احدى انواع الخلايا المناعية التابعة لجلوبولين الدم ، وتتميز بوجود مستقبلات خاصة موجودة على غلافها الخارجى . كما اننا نلاحظ ان عليها مستقبل واحد يميز لها فى عملية ارتباطها بالجسم الغريب . وبعد ان تتم عملية المناعية Immunization (ادخال اجسام غريبة وتكوين اجسام مضادة لها) فان هذه الخلايا التى من النوع بيتا B تكون قادرة على ان تتحد مع الاجسام الغريبة وعند تلك المرحلة فان هذه الخلايا تفرز اجسام مضادة عند نفس مكان وجود المستقبلات التى تتحد مع الجسم الغريب . وبالتالي فان تعدد الاجسام المضادة فى البلازما تعكس مدى تعدد الخلايا التى افترزت هذه الاجسام المضادة (بمعنى ان كل جسم مضاد يفرز من خلية واحدة) وعموما فانه يمكن توضيح ما سبق فى الشكل (١) .



شكل (١٠) رسم توضيحي للإستجابة المناعية لهابتين الأدلوكسين المرتبط مع البروتين الحامل

يتضح من الشكل ان هناك ٣ أنواع من الخلايا من النوع بيتا B وما تفرزه من اجسام مضادة مميزة لها وذلك في صورة استجابة للجسم الغريب (hapten) وهذه العملية لهذه الانواع من الخلايا تكون موجودة في الحيوان الذي تم تحصينه من هذه المادة (hapten) حيث تلاحظ ان بلازما هذا الحيوان الذي تم تحصينه تحتوى على جميع الاجسام المضادة الملائمة لهذا الجسم الغريب والذي بالتالي تسمى (مضادات البلازما متعددة الأوجه) .

ومن نفس الشكل نجد ان بعض الاجسام المضادة " C " تتفاعل مع hapten بمفرده بينما البعض الاخر B يتفاعل مع البروتين الحامل لهذا hapten والانواع المتبقية من هذه الاجسام المضادة A تتفاعل مع hapten أو الرابطة التي تربط بين hapten والبروتين الحامل له أو مع الاثنين معا (hapten + بروتين حامل) . ونجد ان الاجسام المضادة من النوع A فقط هي المرغوب فيها في اجراء عمليات التحليل المناعي وذلك من حيث انها مفيدة من حيث تخصصها في هذا النوع من التحليل ، ويجب ملاحظة ان طرق الفصل الكروماتوجرافي لهذه الاجسام المضادة يعمل على احداث طرد لها من حيث انها تسبب تغيير في درجة تخصصها .

كما ان الاجسام المضادة من النوع A نجد ان لها اوجه ارتباط متعددة لتربط بعدة انواع من hapten بغض النظر عن عدد جزيئات hapten ولكن بشرط ان يكون الوزن الجزيئي لهذا hapten اقل من ٥٠٠ .

* الأجسام المضادة وحيدة الأوجه

بعكس ما يحدث في نظام مضادات البلازما المتعددة الأوجه Polyclonal نجد ان تحضير الاجسام المضادة التي تم افراسها من خلايا متخصصة في تفاعلها monoclonal فانها لا يمكن

فصلها في صورة اجسام مضادة متخصصة عن غيرها من اجسام بروتينية موجودة في البلازما . ولكن من الممكن فصل الخلايا المفزعة لهذه الاجسام المضادة الخاصة بها ، وذلك كما يلي : بعد عملية التحضين فان الخلايا من النوع B يتم ازلتها وفصلها من البلازما وتجعلها تنمو في بيقة وذلك بادماجها في خلايا خاصة بالاورام والتي قد تم عزلها وزراعتها مسبقا ويتم ذلك في الخارج In Vitro معمليا .

هذه الخلايا المدمجة B تسمى بعد زراعتها باسم hybridomas وبالتالي تستطيع ان تنمو وتفرز الاجسام المضادة الخاصة بها . وهذه الخلايا تجد انها تكون مستعمرات تستطيع افراز الاجسام المضادة بصورة موحدة حيث ان كل مستعمرة تكون ناتجة من نمو خلية واحدة الامر الذي يتبعه إنتاج اجسام مضادة بصورة متشابهة وموحدة ومتخصصة لكل جسم غريب .

مما سبق نجد انه لا بد من استخلام طريقة ELISA لكي نتعرف ونحدد خاصية الارتباط بين الجسم الغريب وبين الجسم المضاد لاستخدامها كوسيلة اساسية في التحليل المناعي .

ونجد ان اساس التفاعل يعتمد على الفكرة التالية :

نجد ان الانزيم الموجود في هذه الطريقة ELISA يتوزع ويعمل على ربط المركب الحر الموجود بالعينة والمراد تقديره وذلك بالجسم المضاد الذي تم تحضيره سابقا والذي قد تم ادمصاصه على جزيئات بلاستيكية رقيقة لها خاصية الادمصاص . وكمية الجسم المضاد الذي ارتبط بالجسم الغريب يتم تقديره وذلك بكشف النشاط الانزيمي الذي ارتبط بالجسم المضاد . وهي طريقة سريعة وسهلة علاوة على انها طريقة حساسة في التقدير الكمي والتي يمكن استخدامها لمعرفة كمية الاجسام المضادة المتخصصة المرتبطة بالعينات الغير معروفة .

الفصل الواحد والعشرون

- استخدام الطرق المبسطة للتقدير الكمي لخلفات مبيدات الآفات :

- مقدمة
- طرق التقدير الكمي المبسطة .
- المعاير .
- بعض التفاصيل الضرورية الخاصة بالتقدير الكمي .
- كروماتوجرافي الألواح الورقية TLC .
- التقدير الحيوي باستخدام الدروسوفيلا .
- الطرق اللونية للدايشيو كربامات .
- الطرق الموصى بها للتقدير الكمي .
- * خطوات التقدير .
- * الإستخلاص والتنظيف .
- * كروماتوجرافي الجبل المنفذ .
- الأدمصاص الكروماتوجرافي .

استخدام الطرق المبسطة للتقدير الكمي لمخلفات مبيدات الآفات

Application of simplified methods for the quantification of pesticide residue

مقدمة Introduction :

معظم الطرق المستخدمة حاليا لتقدير مخلفات المبيدات تتضمن استعمال اجهزة ووسائل مكلفة . والحساسية العالية والتخصص الفائق لهذه الوسائل غير مطلوبة في جميع فروع بحوث المبيدات . وفي الغالب يمكن اجراء تقديرات البحث عن المخلفات في الغذاء والتي تجرى بصورة روتينية باستخدام طرق بسيطة واقل حساسية بما يسمح بالتقدير الكمي للمخلفات عند مستويات الدستور codex الخاصة بالمستويات القصوى MRL's . وحيث انه لا توجد اية بيانات دقيقة او تتوفر بقله عن المعاملات السابقة بالمبيدات يصبح من المطلوب توفر طرق لتقدير المخلفات المتعددة "multiresidue" والتي تعطى وضعا موثوق بها عن نوعية المبيد الموجود . والآن اصبح من الشائع استخدام الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC فى تقدير مخلفات المبيدات ولو ان كفاءته العالية ليست مطلوبة للكشف الروتينى Screening عن المخلفات فى المواد الغذائية . وبما يجعل هذه الاجهزة غير مرغوبة احتياجها لصيانة دورية متقدمة وغلو لمن متطلبات التسجيل ، ومن ثم اصبح وجود بدائل وهى كثيرة امرا ضروريا وقد اثبتت نجاحات كبيرة فى الكشف عن مخلفات المبيدات فى حدود آثار وبتركيزات معقولة ... وهذا ما سنتناوله فى هذا المجال .

طرق التقدير الكمي المبسطة Simplified quantitation procedures

المعايير Criteria :

الطرق المبسطة البديلة يجب ان تواكب احتياجات الدول النامية للكشف الروتينى الدورى على المبيدات فى المواد الغذائية وكذلك لانشاء معامل جديدة . ويجب تجنب سوء الفهم المقصود بالطرق المبسطة simplified حيث تعنى تقليل حجم الاجهزة وتكلفة معقولة مع حدود التقديرات المطلوبة ولا تعنى بالمررة تقليل الكفاءة الخاصة بالتقدير . ومن ثم يجب على طرق التقدير الكمي لمخلفات المبيدات ان تحقق المتطلبات التالية :

- تصلح للمبيدات الحشرية والفطرية المعروف عنها السمية على الانسان والثبات البيئى .
- تستطيع تقدير نواتج التمثيل الهامة .
- قادرة على تقدير مدى واسع من مبيدات الآفات .
- ذات فائدة لتقدير المخلفات فى السلع الهامة على المستوى الدولى والمحلى خاصة المواد الغذائية .
- قادرة على تقدير حدود المخلفات بما يعادل ١/٥ الى ١/١٠ الحدود القصوى للمخلفات MRL's .
- قادرة على اعطاء نتائج دقيقة فى حدود ١٠ - ٢٠٪ على مستوى الـ MRL's .
- تتطلب اجهزة غير مكلفة وغير متطورة نسبيا .

- يمكن العمل بها دون الحاجة الى غازات او مذيبات عالية النقاوة الخ .

يمكن تحقيق المتطلبات الموضحة اعلاه بالطرق اللونية والبيوكيميائية والبيولوجية . وكقاعدة عامة فان هذه الطرق غير متخصصة لمركب معين ولكنها تصلح لمجاميع لها نفس الصفات الكيميائية والحيوية . وعندما تستخدم كما هي تكون ملائمة لأغراض الاستكشاف الروتيني بما يوضح وجود المخلفات مجال التقدير . ومن ثم تصبح هذه الطرق غير قادرة على تحديد نوع المبيد ومن هنا يمكن لهذه الطرق ان تحقق التقدير الكمي في حالة ما اذا كانت المبيدات المختلفة تعطي نفس الاستجابة .

الطرق الموضحة فيما بعد تصبح اكثر كفاءة عندما تدمج مع الفصل الكروماتوجرافي الذي يعطي المعلومات الوصفية . ومن اكثر الطرق بساطة وملائمة هو كروماتوجرافي الالواح الرقيقة (TLC) الذي يوصى به بدرجة كبيرة للتعريف الخاص بالمخلفات الموجودة بالاضافة الى مقدرته في التقدير الكمي لو اتخذت بعض المعايير الخاصة والكروماتوجرافي ذو الضغط العالي (HPLC) يمكن التوصية به في بعض الحالات اعتمادا على نوع المبيد وخواصه الطيفية Spectroscopic . ويمكن تزويد المعامل باجهزة مبسطة من الـ HPLC من الوحدات التجارية المتوفرة . وليكن معلوما ضرورة توفر المذيبات العضوية عالية النقاوة في هذه التحليلات . والجدول (١) يوضح مميزات وعيوب طرق التقدير البسيطة للمخلفات وهي تشمل الطرق اللونية والانزيمية والحيوية وكروماتوجرافي الالواح الرقيقة منفردا أو مندمجا مع النظم الانزيمية او الحيوية وكذلك كروماتوجرافي الضغط العالي .

جدول (١) : تقييم الطرق المبسطة للكشف عن مخلفات المبيدات في المواد الغذائية .

المعايير	اللونية	الانزيمية	الحيوية	TLC	TLC والانزيم والحيوية	HPLC
التقدير الكمي	++	+	+	++	++	+++
التقدير النوعي	•	•	•	++	++	+++
تخصص التقدير	+	++	++	++	+++	++
حدود التقدير	+	++	+	+	+++	++
الدقة	++	++	+	++	++	++
الحساسية للشوائب	—	++	++	+	++	+
الوقت اللازم	++	+	+	++	++	•
تكلفة الاجهزة	+	++	+++	+++	+++	•
تكلفة المذيبات وخلافة	+	++	+++	++	++	•
ضرورة التنظيف	—	++	+++	•	++	—
الملائمة للعمل الروتيني	++	++	+	++	++	++

Some experimental details الكمي بالتقدير الخاصة بالضرورة

لكروماتوجرافي الألواح الورقية TLC :

كما هو معروف يمثل سمك طبقة المادة المغطاة للوح أهمية كبيرة جدا . وكقاعدة عامة تعتبر الألواح المجهزة بطريقة يدوية غير ملائمة . ومن أحسن الألواح تلك المجهزة تجاريا من شرائط الألومنيوم . ولعمل تنقيط للعينات دقيق ومرضى تستخدم الماصات الدقيقة والمستهلكة وهي تفيد في تقليل خطأ الانسياب . وفي حالة الحجم الكبير يكرر إضافة الحجم الصغير . والاستخدام المتجانس uniform للجواهر الكشافة في غاية الأهمية . وعلى سبيل المثال محلول نترات الفضة يؤدي إلى تكوين توزيع متجانس للجواهر الكشافة عندما يغمر فيها بدرجة تفوق ما يحدث عند الرش . واستخدام الألواح المعاملة بنترات الفضة قد تكون مناسبة ولكنها ترفع من حدود التقديرات .

تحدث تداخلات خطيرة في حالة وجود مستخلصات مرافقة Co-extractives وهذا يؤكد حاجة تكتيك TLC إلى عمليات تنظيف متتابة وشاملة Clean-up في معظم الحالات . والتقدير الذي يعتمد على تثبيت أنزيم الكولين استريز يتطلب عمل تنقيط بحجم قليل من المحلول الخاص بالعينة في حدود ملليجرامات قليلة . وللتغلب على الخطأ الناجم عن الاختلافات الموجودة بين لوح وآخر يجب تكرار التجارب وبصفة منتظمة باستخدام العينات القياسية على نفس الكروماتوجرام جنباً إلى جنب مع العينات محل التقدير .

في التقدير الكمي يمكن الحصول على أحسن النتائج بالمقارنة المرئية visual لمكان وحجم وكثافة البقع Location, size and intensity الناجمة من سريان مستخلصات العينات بالمقارنة ببقع المركبات القياسية . ويستخدم في ذلك البلاستيقيتر مع أو بدون ورق المربعات أو وزن الورق الذي يمثل مساحة البقعة بعد قطعها من نسخة الزيروكس . وفي بعض الحالات يجرى الفحص الاللي للبقع مباشرة Direct scanning ولكنه يحتاج خبرة كافية لتفسير النتائج بصورة سليمة . وتختلف الآراء حول دقة ومصدقية النتائج التي يعطيها هذا التكتيك في مجال مخلفات المبيدات . وجميع هذه الطرق لا يمكن معها القول إن استخدام الأجهزة الأكثر تطوراً ضرورية لتحسين النتائج خاصة إذا اخط في الاعتبار الأخطاء الناجمة من مصادر أخرى .

لإقامة منحى قياسي تمثل مساحات البقع للمواد القياسية على طول المحور الرأسى اللوغاريتمى على ورق نصف لوغاريتمى بينما تمثل كميات المبيدات المقابلة لكل دقيقة على المحور الأفقى للنتروج . ومن ثم يؤدي بحساب ورسم العلاقة الخطية للإنحدار .

للكشف عن المخلفات في المواد الغذائية بشكل روتينى لا يكون من الضروري عمل تقدير كمي دقيق جدا ولكن المهم هو معرفة وتحديد ما إذا كان الحدود القصوى للمخلفات زادت عن القيم المحددة والمطلوبة أم لا . وفي هذه الحالة يكون كافيا استخدام بقعة واحدة قياسية تماثل قيمة MRL في محلول العينة .

: Bioassay with Drosophila باستخدام الدروسوفيلا

من العوامل المحددة لنجاح الاختبار ضمان تجانس الكائنات الحية المستخدمة وتربيتها تحت ظروف ملائمة ثابتة . ويجب عدم تحديد الذباب حتى يمكن نقله لطبق الاختبار . ولأجراء التقدير الكمي باستخدام الذباب يجب توزيع المستخلص على نصفى مسطح طبق الاختبار بصورة متجانسة . ويكون التقدير سهلا عندما يتم حصر الحشرات المسممة على فترات (متوالية هندسية من ١٥ دقيقة الى ٦ ساعات) . ويتم تمثيل النسب المئوية للموت على ورق الاحتمالات فى مقابل وقت اخذ القراءة . ومن الخط المستقيم الناتج يمكن الحصول على الوقت اللازم لتحقيق قتل ٥٠ ٪ من الحشرات (LT50) ويمكن الحصول على نفس النتيجة بطريقة حسابية حيث يتم تحويل قيم الموت الكلية الى وحدات احتمال وتمثيلها على طول التدرج الخطى . وتتخذ قيم الـ LT50 كمعيار لكمية المبيد الموجودة . ولإقامة المنحنى القياس يتم تمثيل قيم LT50 فى مقابل كميات المبيدات المقابلة كلاهما على التدرج اللوغاريتمى .

: Colorimetry for dithiocarbamates الطرق اللونية للداى ثيو كربامات

التسخين السريع جدا الى الغليان ضرورى لتفادى فقد ثانى كبريتور الكربون الناتج من تكوين المشتقات الحلقية من الاثيلين ثنائى الدايتيوكربامات . ويعتبر محتوى النحاس (١٢ مللجم خلات نحاس) الخاصة بالجواهر الكشاف داي ايثانول امين عامل محدد لكثافة اللون ومن ثم يجب ان يظل ثابتا . ولا يمكن الاستمرار فى تقييم امتصاص ما يقل عن ١ ر (تعادل ٥٠ مللجم ثانى كبريتور كربون) نظرا لعدم خطية المنحنى القياسى . وفى هذه الحالات يصبح لزاما على القائم بالتحليل تكرار عملية التقدير باستخدام حجم كبير من العينة .

Procedures recommended for quantitation الطرق الموصى بها للتقدير الكمي

: Determination step خطوات التقدير

عموما نأخذ فى الاعتبار معايير الطرق المبسطة والطرق الكمية للتقديرات يمكن التوصية بعدة طرق مختلفة لاحدى عشر مجموعة من مبيدات الآفات المعروف عنها كل ما يتعلق بالسمية والاثبات . بالطبع ستعطى اولوية للطرق التى تحقق معلومات عن الكيف والسمية . والقائمة الموجودة فى الجدول رقم (٢) توضح امكانيات التحليل المتوفرة والتى اسفرت عنها الخبرات الطويلة فى هذا المجال .

: Extraction and clean up والتنظيف والاستخلاص

معظم الطرق الكمية الموصى بها فى الوقت الحالى كطرق مبسطة ظهرت فى بداية الستينيات عندما لم يكن الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC شائعا فى التحليلات فى ذلك الوقت . وفى نفس الوقت حدث تطور كبير فى طرق تنظيف المستخلصات ، ولهذا السبب يمكن عمل تحويلات وتطويرات على الطرق الاولى التى ظهرت قديما بما يتماشى مع المتطلبات الحالية .

* الاستخلاص Extraction .. تستخلص العينات بمذيب الاسيتون وبغسل الاسيتونتريل مع المبيدات الكلورينية فقط . يؤخذ في الاعتبار المحتوى المائي للعينة ويستخدم مخلوط الاسيتون والماء بنسبة ٢ : ١ خلال الاستخلاص . ويشيع المستخلص بكلوريد الصوديوم ويخفف بالديكلوروميثان لفصل الماء المرافق للاستخلاص (التخفيف بالماء والتوزيع المتتابع غير ملائم بسبب فقد المبيدات الذائبة في الماء) . والمستخلصات المركزة يمكن تحليلها بالطرق الحيوية او بوسائل التثبيط الانزيمى .

جدول (٢) : الطرق المبسطة الموصى بها للتعريف المتتابع والتقدير الكمي لمخلفات المبيدات .

مجموعات المبيدات	الطريق	المراجع
المبيدات الكلورينية العضوية	TLC - تترات الفضة / UV	٨ - ٥
	التقدير الحيوى بالدروسوفلا (كمى فقط)	١٢ - ٩
المبيدات الفوسفورية العضوية	TLC - تثبيط استرازمات كبد البقر	١٥ - ١٣
	التقدير الحيوى بالدروسوفلا (كمى فقط)	١٢ - ٩
	تثبيط الكولين استريز بانتشار الاجار (كمى فقط)	١٨ - ١٦
الميثيل كاربامات	TLC - تثبيط استرازمات كبد البقر	١٥ - ١٣
	التقدير الحيوى بالدروسوفلا (كمى فقط)	١٥ - ١٣
	تثبيط الكولين استريز بانتشار الاجار (كمى فقط)	١٨ - ١٦
	الكروماتوجرافى HPLC والتقدير بالـ UV	٢٢ - ١٩
الداينثروفيثيل	الكروماتوجرافى HPLC والتقدير بالـ UV	٢٣
الدائى ايوكربامات	هضم الحامض - التقدير اللونى لثنائى كبريتور الكربون	٢٥ - ٢٤
مبيدات فطرية اخرى	TLC - تثبيط نمو جراثيم القطريات	٢٧ - ٢٦
	TLC - تترات الفضة / UV (المخلفات المختبرية)	
على الهالوجينات فقط		٢٨
الترايازينات	TLC - تثبيط تفاعل Hill	٣١ - ٢٩

* كروماتوجرافى الجيل المنفذ Gel-permeation chromatography :

التنظيف باستخدام عمود فصل بسيط Gpc يمكن من فصل مرافقات الاستخلاص الزائدة ولكنه لا يستطيع التفرقة بين المخلفات ذات القطبية المختلفة مما يعطيها صفة الخطوة الدولية للتنقية (مثال ذلك طريقة الكريات الحيوية S-X 3 التى تزاخ مع السيكلوهكسان / ايثيل اسيتات (١ + ١) . والسائل المزاح المركز يمكن تحليل بطريقة كروماتوجرافى الالواح TLC مع التثبيط الانزيمى أو طرق التقييم الحيوى .

الادمصاص الكروماتوجرافي Adsorption chromatography :

خطوات التنظيف الإضافية باستخدام السليكا جيل أو الألومينا أو مخلوط السليكا جيل / الشاركول فى الأعمدة يحقق تنقية أكثر تخصصاً للمستخلص . وأنابيب البلاستيك القابلة للاستهلاك مع السليكا جيل أو C-18 كمادة مغلفة أو الفلوريسيل مع استخدام الحقن الخاصة يحقن تحت الجلد تعتبر مناسبة فى العديد من الحالات . والسوائل المركزة المزاحة من العمود يمكن تحليلها بكروماتوجرافى الألواح مع الكشف المرئى عن البقع .

والمطلوبات الأساسية لاستخدام الطرق المبسطة إن تحقق نتائج التقدير الكمية توافقاً نسبياً مع ما يعطيه الكروماتوجرافى الغازى GLC . ولقد أمكن الحصول على نتائج ممتازة عن المخلفات باستخدام هذه الطرق المبسطة وما زال هناك قليل من عدم الثقة من تأكيد هذه النتائج إذا ما أجرى التحليل مرات أخرى باستخدام الـ GLC والـ TLC .

ومن المعتقد إن القليل فقط منشور عن إمكانيات هذه الطرق المبسطة مما يؤكد ضرورة توفر معلومات إضافية أخرى فى بعض المعامل . وهذا حقيقى فى البلدان التى أمكن تقييم قياسية هذه الطرق فى معاملها . والتقارير رقم ١٣ الذى أعدته هيئة IUPAC عن مبيدات الآفات (المرجع الأول) يلخص البيانات النسبية التى تحصل عليها من طرق الـ GLC والـ TLC . وقد قدم الباحث M. A. Klisenko (مرجع ١٤) إسهامات أخرى فى معامل فى الاتحاد السوفيتى . وفى الجدول (٣) تم توضيح هذه النتائج مقارنة بين كفاءة الطرق المبسطة وتلك الأكثر تقدماً فى التقدير الكمية لمخلفات المبيدات .

جدول (٣) : معدل الاسترجاع وحساسية التقدير لـ مختلف المبيدات بالكروماتوجرافى الغازى
السائل GLC وكروماتوجرافى الألواح TLC الرقيقة .

المبيد		كروماتوجرافى الألواح		الكروماتوجرافى الغازى السائل	
الوسط		معدل الاسترجاع	حد التقدير	معدل الاسترجاع	حد التقدير
		(%)	مللجم / كجم	(%)	مللجم / كجم
بنزازون	الذرة	٨٨ ± ١٢	٢ ر	٧١ ± ٨	٠٥ ر
	الماء	٩٠ ± ٦	٠٥ ر	٩١ ± ٥	٠١ ر
	التربة	٧٣ ± ١٠	١ ر	٨٩ ± ٧	٠٣ ر
كلوربيريفوس	الخضروات	٩٦ ± ٤	١ ر	٩٦ ± ٢	٠٠٥ ر
ديازينون	الخضروات	٩٢ ± ٧	٢ ر	٩٤ ± ٨	٠٥ ر
	التربة	٨٥ ± ١٠	٢ ر	٨٥ ± ٢	٠٥ ر
فينيثروليون	الذرة	٧٢ ± ١١	١ ر	٨١ ± ٥	٠٢ ر
		٨٩ ± ١٠	٠٢ ر		
ايزوفوس	الارز	٨٣ ± ١٢	٠٥ ر	٩١ ± ٥	٠٣ ر
	الماء	٩٠ ± ١٠	٠٠١ ر	٩٥ ± ٥	٠٠٥ ر
	التربة	٨١ ± ١١	٠٥ ر	٨٦ ± ١٠	٠١ ر
ميثازين	التربة	٨٥ ± ٣	٠٥ ر	٨١ ± ٩	٠٥ ر
اوكتاديازون	الارز	٧٥ ± ١٣	٠٥ ر	٨٥ ± ٦	٠٤ ر
الفوكسيم	الخضروات	٨٥ ± ٣	١ ر	٧٦ ± ٩	٠٠٤ ر
	التربة	٩٢ ± ٣	١ ر	٩٤ ± ٦	٠٠٤ ر
البريميغوس	الخضروات	٨٦ ± ٣	١ ر	٨٩ ± ٣	٠٠٢ ر
	التربة	٩٥ ± ٣	١ ر	٩٥ ± ٣	٠٠٢ ر
ترياسيل	الفواكه	٨٠ ± ١٠	١ ر	٨١ ± ٧	٠٢ ر
	الماء	٨٧ ± ١٠	٠١ ر	٨٩ ± ٦	٠٠٥ ر
	التربة	٧٤ ± ٧	١ ر	٧٩ ± ٦	٠٣ ر

* مقدرة انزيميا

REFERENCES قائمة المراجع

1. V. Batora, S. Lj. vitorovic, H. P. Thier and M. A. klisenko, Pure Appl. Chem. 53, 1039-1049 (1981).
2. M. Beroza, K. R. Hill and K. H. Norris, Anal. Chem. 40, 1608-1613 (1968).
3. J. D. MacNeil and R. W. Frei, J. Chromatogr. Sci. 13, 279-285 (1975).
4. V. N. Mallet, P. E. Belliveau and R. W. Frei, Residue Rev. 59, 51-90 (1975).
5. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 13th edition, Washington (1980); section 29. 019-29.027.
6. Pesticide Analytical manual, U. S. Department of Health, Education and Welfare, FDA (1977); vol. I, section 410.1-413.2.
7. Deutsche Forschungsgemeinschaft, Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, Verlag Chemie, Weinheim-New York (1979); method S 9.
8. Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke, Nahrung 14, 647-659 (1970).
9. W. Weinmann, z. lebensm, Unters. Forsch. 107, 504-510 (1958).
10. Y. P. Sun, Bioassay-Insects. In : Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives, G. Zweig ed., Academic Press, New York-London (1963); vol. I, P. 399-423.
11. W. F. Phillips, Screening Methods. In : Analytical methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives, G. Zweig ed., Academic press, New York-London (1963); vol. I, p. 471-490.
12. H. Rothert, Dtsch. Lebensm. Rundsch, 63, 81-85 (1967).
13. Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke, Nahrung 14, 671-681 (1970).
14. C. E. Mendoza, Residue Rev. 43, 105-142 (1972).; 50, 43-72 (1974).
15. S. Udaya Bhaskar and N. V. nanda kumar, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 64, 1312-1314 (1981).
16. T. E. Archer, enzymatic Methods. In : Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives, G. Zweig ed., Academic Press, New York-London (1963); vol. I, p. 373-397.

17. G. Voss, *Residue Rev.* 23, 71-95 (1968).
18. Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke, *Nahrung* 14, 695-697 (1970).
19. J. F. Lawrence, *J. Agric. Food Chem.* 25, 211-212 (1977).
20. I. Fogy, E. R. Schmid and J. F. K. Huber, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 169, 438-443 (1979); 170, 194-199 (1980).
21. R. T. Krause, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 63, 1114-1124 (1980).
22. F. H. Funch, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 173, 95-98 (1981).
23. P. A. Greve, *Personal Communication* (1981).
24. G. E. Keppel, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 54, 528-532 (1971).
25. Deutsche Forschungsgemeinschaft, *Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln*, Verlag Chemie, Weinheim-New York (1979); method S 15.
26. R. Engst and W. Schnaak, *Nahrung* 23, 701-706 (1979).
27. J. Zadrozinska, *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* 30, 31-37, 433-440 (1979).
28. Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke, *Nahrung* 14, 703-706 (1970).
29. J. Kovac and M. Henselová, *J. Chromatogr.* 133, 420-422 (1977).
30. M. Sackmauerová and J. Kovác, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 2929, 414-415 (1978).
31. J. F. Lawrence, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 63, 758-761 (1980).
32. W. Specht and M. Tillkes, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 301, 300-307 (1980).
33. A. Ambrus, J. Lantos, E. Visi, I. Csatlos and L. Sárvári, *J. Assoc. Off. anal. Chem.* 64, 733-742 (1981).
34. M. A. Klisenko, *Personal communication* (1982).

الفصل الثانی والعشرون

- اتجاهات خاصة بطرق تقدير مخلفات المبيدات :

* المعلومات التي يمكن العمل بدونها او استبدالها .

* هل حقق التحليل شيء ام قلل قيمته ؟

* دمج فرعى تحليل المخلفات (الصناعة والصحة العامة)

* الوقت أو المال .

* إتخاذ او صنع القرار .

* اين نقف واين نذهب من الآن ؟

* السهولة والتوقعات .

* قائمة المراجع

اتجاهات خاصة بطرق تقدير مخلفات المبيدات

Trends in pesticide residue methodology

شهد مجال تحليل المبيدات العضوية بدايته منذ اربعون عاما مضت . ولقد اجتهد المؤلف في تمييز هذه الفترة بالعمل على تقدير المخلفات في حدود ٢ جزء في المليون . والغرض من هذا الموضوع توضيح امكانية تحقيق استفادة اكبر من طرق التحليل المتاحة بتوسيع دائرة الاستخدام وتوفير الوقت والجهد وتحقيق التبسيط . وستتناول بعض النقاط الحيوية مثل :

المعلومات التي يمكن العمل بدونها او استبدالها :

Information we could well afford to do without (or to replace)

بعض محترفي هذا العلم يتعمدون تجاهل عامل الزمن او يفضوا البصر عن هذا العامل ، فهناك بعض الباحث الذين ما زالوا يعملون على ايجاد طرق لتقدير المبيدات القديمة جدا . ولتوضيح ذلك تم اختيار ثلاثة مركبات بطريقة عشوائية لمناقشتها . وتساءل ماذا نريد من ٩٠ طريقة جديدة لتقدير الد د د ت ؟ الاجابة مضيقعة للوقت والجهد والمال .. الم يكن من الاجدى ان يعمل هؤلاء الباحث بصورة اكثر نفعاً في مجالات اخرى وعلى سبيل المثال تقديم معلومات اكثر في مجال تحليل المخلفات في الاتجاهات التالية :

- دراسة مقارنة لمستويات المخلفات المقدرة في التجارب الحقلية على المحاصيل المختلفة بهدف التوصية بتحليل المحصول (أ) فقط اذا كان معلوما عدم احتمال وجود مخلفات عالية في المحصول (ب) ، أو

- معلومات عن فقد المخلفات خلال الاستخدام المنزلي او عمليات التصنيع (وتفيد هذه المعلومات في تخفيف هلع المستهلكين للمبيدات وتقليل السخافات التي يتعرض لها طالبى تسجيل المبيدات من قبل المسؤولين عن التسجيل عند قيامهم بحساب درجة تعرض المستهلكون لمخلفات المبيدات في المواد الغذائية باستخدام مفهوم التعاطى اليومي النظرى الذى يحسب من قيم الحدود القصوى للمخلفات الخاصة بالمبيدات (MRL's) Maximum residue limits .

والبعض الاخر ممن يقومون بتحليل المخلفات يركزون جهودهم للبحث في طرق تحليل المركبات النقية وعلى سبيل المثال البحث في ايجاد طرق لفصل وتقدير المبيدات في غياب المادة النباتية أو الحيوانية أو غيرها . وهذا الخط من البحث يماثل من يبحث عن طبيعة السخرة (quiz) حيث يترك للآخرين اكتشاف ما اذا كانت النتائج التى تحصلوا عليها لها قيمة تطبيقية أم لا . أما القائمين بالتحليل الذين تخصصوا في البداية في تطوير العمل بالاجهزة ولهم اسهامات مقبولة في تسهيل عمليات التحليل وتقليل متطلباتها واختصار وقت تنفيذها مما ادى الى تحسين اقتصاديات التحليل وتحقيق درجة عالية من الدقة . ومع هذا يعتبر هذا العمل غير مقبولا اذا لم تحقق النتائج

هذه الاهداف او لم يمكن الاستفادة بها من قبل الآخرين .

هل حقق التحليل شئ أم قلل قيمتها ؟ Does it make sense or is it worth it ?

بالرغم من ان القائم بالتحليل غالبا ما يكون مجبرا على عمل مجهودات غير عادية ، الا ان هناك تزايد مضطرب من قبل مسؤولي التسجيل والتشريع فيما يتعلق بالمتطلبات اللازمة تحت دعوى تحقيق أمان أكثر للمستهلكين والبيئة ومستخدمى المبيدات . ويتبادر الى الأذهان المطالب الخاصة بضرورة اجراء دراسات الانهيار فى قش الفول ... ومن الأفضل الاشارة الى مثالين يتسما بالتهويل وهما :

- الاتجاه نحو ادخال نواجج التمثيل عالية القطبية او المرتبطة عند تعريف مخلفات المبيد كما فى أوربا ...

- معيار السوق الاوروبية المشتركة فى مياه الشرب والذي حدد الحد الاقصى للمخلفات بمقدار ١ ر جزء فى البليون لكل مبيد منفرد ومستوى ٥ ر جزء فى البليون كمخلفات كلية من اجراء تتابع التطبيق بخطأ لا يتعدى ± 210 . ولسنا فى حاجة للقول ان هذه المتطلبات ستقلل لحد كبير من نسبة استخدام المبيدات فى دول السوق . بالنسبة للمثال الأول قد يسأل البعض عن كيفية إدخال جميع المركبات فى طريقة تقدير المخلفات المتعدد بما يتلائم مع أغراض الاستكشاف أو التسجيل أو التداول .

بالنسبة للمثال الثانى يقصد المؤلف الاشارة الى ان دول السوق الاوروبية حددت مهام القائم بالتحليل من البداية بوضع متطلبات ما قبل التحليل لمعظم المبيدات بهدف التشريع .

وهذا مثير للدهشة ولكنه وضع طبيعى للتعارض الموجود بين السياسة والاراء العامة والعلوم والتي فيها اصبح التحليل المخلفات مغلوла . ومن المؤسف ان متطلبات التسجيل والتشريع تفتقر الى التجانس والتناسق ومن ثم لا ستيفاء الكم الهائل من النتائج التى تسفر عنها التحليلات الضخمة على المستوى العالمى .

دمج فرعى تحليل اخلفات (الصناعة و العام) Merger a long way off :

هناك قسمان لتحليل المبيدات تبعا لاغراض الاستخدام هما الصناعى والعام Industrial and Public . وتبدو اهمية الدمج بين هذين الاتجاهين فى المستقبل القريب امرا فى غاية الاهمية . القسم الاول يختص باعداد البيانات الخاصة بتسجيل المبيدات بينما القسم الآخر يختص بتحديد الحدود القصوى للمخلفات MRL's واستكشاف الخلفات فى الغذاء والاعلاف ومكونات البيئة الاخرى . وكلا القسمان يجب ان يطورا ويهيئا انفسهما لظهور العديد من مبيدات الآفات التى تستخدم بتركيزات اقل كثيرا من المبيدات التقليدية القديمة . وعلى ذلك يضطلع الفريقان بمهمة تطويع الاتجاهات ذات الفعالية والتكاليف العالية . ويقوما كذلك بوضع نظام خدمات على اعلى مستوى يحقق كفاءة الاتصالات بين القائمين بالتحليل لأن المحصلة النهائية لهذا العمل تتمثل فى

لايجاد وتطوير طرق عملية للتحليل المائى الكمى للمواد المرتبطة والموجودة فى الوسط المحتوى على المبيد .

الوقت أو المال Time or money :

تستطيع المعامل التى تجرى التحليلات العامة استغلال مواردها بصورة اكثر اقتصادية اذا ركزوا عملهم على تقدير الخلفات ذات الاهمية التوكسيكولوجية وكذلك فى المواد الغذائية التى تستخدم بصورة ضرورية وثابتة بكميات كبيرة . والمشكلة موضحة فى الشكل رقم (٢) . وفى الرسم العلوى يمثل الجزء المظلل العلاقة بين المبيد والسلمة الموجود فيها والتى تمثل الاهتمام الاكبر من قبل مسئولى التشريع والتحليل . وبمجرد وضع وتحديد النسبة التى تتطلب اجراء طرق التحليل المتعدد يصبح من السهل على القائم بالتحليل التركيز على ايجاد وتطوير طرق مناسبة للجزء الباقى بما يساهم فى تقديم حماية افضل للمستهلك (الرسم السفلى) . ويقيد هذا النظام على النطاق الدولى الواسع وفى المناطق الجغرافية والثقافية والزراعية المحددة .

وهناك اعتبارات معينة ومحددة تحدد اختيار مركب معين لاجراء تجارب الخلفات عليه واعتباره ممثل لمبيد معين ونواجج تمثيله ويطلق عليه المركب الدليل indicator compound وفى هذا الاقتراب يتم تحليل مخلفات هذا المركب فقط وبناء على النتائج توضع الاستنتاجات الخاصة بالمبيد المقابل . ولاختيار مركب منفرد لتمثيل الخلفات تتخذ المعايير الآتية :

- يمثل تركيز هذا المركب علاقة معروفة مع تركيز المبيد ذو التأثيرات التوكسيكولوجية المؤكدة .

- يجب ان يكون المركب ذو ثبات كافى بما يسمح بتكرار صحيح لنتائج التحليل .

- يجب ان يكون المركب متوفرا كمادة قياسية فى التحليل .

- يجب ان يكون قابل للاسترجاع فى طرق تحليل الخلفات المتعددة .

واختيار المركب الدليل يجب ان يقوم به المخترفون ذوى الخبرة الفاعقة فى مجال التحليل تبعاً للأسس الدولية المتفق عليها ، وعلى سبيل المثال ، ما تبذل من مجهودات فاعقة من قبل منظمة الاغذية والزراعة FAO وكذلك الصحة العالمية WHO للتنبيق بين الدول فى مجال تحديد الحدود القصوى للمخلفات MRL's من خلال الوكالة الخاصة بالذستور الغذائى لخلفات المبيدات (CCPR) وحل المشاكل الناجمة عن الفرور الخلى وتقديم مقاييس ومعايير خاصة . ولقد وضعت "CCPR" الحدود القصوى لخلفات ١٥٠ مركب فى أكثر من ٢٥٠٠ سلعة غذائية استنادا لتجارب التقييم خلال عشرين عاما من قبل FAO/WHO خلال الاجتماعات المنتظمة المشتركة بينهما فى مجال الخلفات (JMPR) . وتتركز هذه المجهودات على المبيدات الاكثر شيوعا وتواجدا فى المواد الغذائية واسعة التداول على المستوى العالمى . وتجدر الاشارة كذلك الى التوصيات الخاصة بطرق التحليل المعتمدة من قبل لجنة (CCPR) وكذلك اسلوب اخذ العينات ونواجج التمثيل التى

يشملها التحليل ، نظرا لأن هذه العوامل تؤخذ في الاعتبار بأشكال مختلفة مما يجعل من الصعب ان لم يكن مستحيلا مقارنة النتائج المتحصل عليها من المعامل المختلفة في ارجاء العالم .

والقائمون بتحليل المخلفات واستكشاف وجودها ومستوياتها في المواد الغذائية مسئولون كذلك عن التأكد من اذا ما زادت الحدود القصوى للمخلفات عن القيم الموضوعية والحددة . وعليهم ان يقوموا بتحليل المواد الغذائية للكشف عن عدد كبير من المبيدات على مستويات مختلفة بدرجة كبيرة وكل هذا مصحوبا باختلافات كبيرة في الوقت والتكاليف . ونستهدف في هذا المقال تبسيط الطرق الغير شائعة . ومنذ عشرين عاما تم وضع اسس نظام التقدير ذو الثلاثة خطوات بواسطة الباحث Francis A. Gunther الذي توفي في العام الماضي بعد ان ساهم بمجهود وعلم غزير في مجال تحليل مخلفات المبيدات .

والخطوات التي تناولها هذا النظام والذي يمكن استخدامه في تحليل المخاليط يشتمل على :

١ - تقدير مقارن المكونات Constituent screening التي يعتقد بوجودها مع الاستعانة بالحدود الدنيا لمعايير الكشف ،

٢ - تقدير فصلي Segregative screening ويعنى فصل العينات التي تحتوى على مخلفات اعلى من المسموح به عن تلك العينات التي تحتوى على مخلفات اقل من المسموح به ،

٣ - تقدير مقارن كمي quantitative screening ويقصد به تقدير المركبات المتوقع وجودها . وفي عام ١٩٨٤ تم نشر نتائج حصر مخلفات مبيدات الآفات في المواد الغذائية والتي اجرتها الجمعية البريطانية للقاتمين بالتحليل ولقد كلفت المعامل بحمل تقارير توصيف مستويات المخلفات وتصنيفها تبعا للأقسام المختلفة من المبيدات .

وهناك ميزة كبيرة في استخدام المستويات الموصفة والتي تضمها التقارير والتي تحققت في جميع المعامل حيث تحدد وتزود المختصين بمستوى يقل عن الحد الاقصى للمخلفات بمعامل معين . وفي هذا المقام تم وضع تصور معين من قبل لجنة المخلفات التابعة لهيئة "GIFAP" ولقد بنى هذا التصور على قبسول مبدأ تعريف التركيز الأدنى الواجب تقديره في العينة "To be determined" "MCD" Minimal Conc. . ولقد تم توصيف هذا التركيز على انه جزئية من الحد الاقصى الموجود او المتوقع او المقدر . ويجب ان تؤخذ مفاهيم مقارنة أو متشابهة لتحليل العينات البيئية . وهذا الاقتراب او الاسلوب يسمح بتحديد الأمان بطريقة معقولة التكاليف . وفيعد كذلك في تمكين القاتمين بالتحليل لابتكار ووضع طرق مناسبة . والشكل التالى يوضح تصور تقدير التركيزات الدنيا بناء على الحدود القصوى للمخلفات .

الحد الأقصى للمخلفات (MRL) التركيزات الدنيا الواجب تقديرها (MCD)
(ملجم / كجم)

أكثر من ١ ر تساوى ٥	٥ ر
٥ ر - ١	١ ر - ٥
٥ ر - ١	١ ر - ٥
أقل من ٥ ر	نصف الحد الأقصى

اتخاذ أو صنع القرار Decision-making :

من المشاكل الكبيرة التي لم تحل حتى الآن بصورة مرضية تلك التي تتعلق بالمعايير التي يتخذها مسعول التحليل للوصول الى قرار يحدد بشكل قاطع ما اذا كانت الحدود القصوى للمخلفات ستزداد ام لا . ولهذا الغرض تستغل مفاهيم اثر خطوط العرض على اساس الدور الذي تؤثر به على اختلاف حدود المخلفات عندما تتوفر كل مقومات التقدير السليم وعندما تكون القيم اعلى من الحدود القصوى المسموح بها "MRL" . ومن البساطة اتباع الاسلوب الذي اقتره ووضعتة الـ "CCPR" والذي فيه توضع نتيجة التحليل في رقم مؤكد واحد One significant figure ويقارن بالحد الأقصى للمخلفات . وينبى هذا الاسلوب على اساس ان الـ MRL نفسه يوصف بقيمة واحدة فقط مؤكدة معنويا .

والكلام عن القيم المؤكدة المعنوية يعيد الى الازهان ان القائمين بتحليل وتقدير المخلفات لم يتفقوا بعد على تحديد حدود ومستويات التقدير او الكشف . والقرار النهائي للقائم بالتحليل والذي يقرر عدم احتواء العينة على اية مخلفات يمكن تقديرها يعتبر انعكاس ليس فقط لمهارة القائم بالتحليل ولكن على الحدود التي وضعها للتقدير كذلك . ومرة اخرى نجد انفسنا امام اسراف شديد في طرق تحليل المركبات النقية بحيث يقوم المحلل باعتبار اقل كمية يمكن تقديرها من المبيد النقي في المحاليل القياسية كحد مقبول للتقدير او الكشف عن المخلفات . وتعريف حد التقدير والكشف في تحليل المخلفات يأخذ ثلاثة اعتبارات هي : الا تكون اقل من حدود الكشف ، الا يكون معدل الاسترجاع اقل من ٧٠ - ٨٠ ٪ ، وكذلك معامل الاختلاف لا يزيد عن ٢٠ ٪ .

اين نقف واين نذهب من الآن

Where do we stand, and where do we go from here ?

في عام ١٩٨٥ ومن خلال الاستعراض الخاص بتحليل مبيدات الآفات الذي وضعه Sherma and Zweig ثم الاعلان بان طرق التحليل التي لها أفاق مشجعة ومؤكدة للتطوير هي الكروماتوجرافي الغازي الشعري Capillary gas chromatography وكذلك الكروماتوجرافي

الغازي المرتبط مع مقياس الكتلة GC/mass spectrometry لتعريف مخلفات المبيدات ونواحي التمثيل والملوثات وكذلك الـ HPLC المزود بنظام معكوسة ومرتبطة وكاشفات كهروكيميائية ، وكذلك اجهزة الكروماتوجرافي على الألواح الدقيقة عالية الكفاءة (HPLC) والتقدير الكمي باجهزة الطيف الذاتية الالية . ولقد اشار المؤلفون ان حساسية معظم الطرق لا تقل عن مستوى البيكوجرام ولو ان الكروماتوجرافي الغازي الشعري قادر على تقدير كميات في حدود الفيمتوجرام Femtogram وتم توضيح وتأكيد على ان العينة النظيفة تعطى نتائج افضل Clean sample .

يجب ان يكون هدف عملية الاستخلاص "Extraction" القدرة على الإسترجاع الكامل لمكونات وسط التحليل وفي نفس الوقت تقوية المخلفات بعشرات المرات ، وهذا غير ممكن التحقيق بطرق الاستخلاص التي يستخدم فيها نظام السائلين Liquid/liquid ولهذا السبب حدث تزايد في احلالها بطرق الاستخلاص السائلة / الصلبة Liquid/solid والتي يمكن ان تزود مباشرة مع الـ HPLC .

نوضع الامل على طرق التحليل المختصرة والمصغرة "Miniaturization" حيث يتبدأ اولى خطوات الاختصار من الخطوة الاولى وهي الاستخلاص . ولو اننا لا نملك حالياً نتائج كافية تمضد وتؤكد لى مدى يمكن تقليل حجم العينة دون الاضرار بطبيعة العينة المثلثة للواقع . ومع ذلك ظهر انه من الممكن تقليل وزن عينة التحليل بحيث تكون ٢ - ٥ جرام دون حدوث نقص ملحوظ في دقة الطريقة بشرط اخذ عينة التحليل من عينة حقلية ثم توزيعها بتجانس بحيث لا يؤثر هذا التوزيع على المخلفات . وطريقة التحليل المختصر الدقيق تركز على المحاليل الناتجة من الاستخلاص التقليدي . ومن المدهش انه بتقليل خطوات تنظيف العينة Clean-up أمكن توفير الاحتياجات الخاصة بالاجهزة والجواهر الكشافه والوقت ومكان التحليل في داخل المعامل ، وعلى سبيل المثال تتحقق الفوائد السالفة الذكر باستخدام الاعمدة الدقيقة وتقليل خطوات التقدير . وليكن معلوما ان اعمدة الادمصاص الدقيقة (المصغرة) ليست مشجعة لتحقيق إزالة كافية للمستخلصات المرافقة "Co-extractives" خاصة مع طرق تقدير مخلفات المبيدات "MRP's" نظرا لان معظم المخلفات محل التساؤل وكذلك مرافقات الاستخلاص المطلوب ازالها لا تختلف كثيرا في القطبية . والآن نقول ان الطرق المختصرة والمصغرة الدقيقة لتقدير مخلفات المبيدات تتطلب اجهزة خاصة ومعدات نمائل المستخدمة في الكيمياء العضوية الدقيقة Organic chemistry micro- والتى ثبت كفاءتها مع المخلفات .

لقد تحسنت طرق تقدير المخلفات الدقيقة والمصغرة باستخدام المواد القياسية الداخلية In-ternal standard (IS) بواسطة الباحث R.J. Hemingway . وآخرين وبالرغم من ذلك لم يشيع إستخدام هذه المواد في تحليل مخلفات المبيدات ويتركز النقد على اساس ان مرافقات الاستخلاص ونواحي تحول المبيدات لابد وان تغير من حجم قمة المنحنى القياسى وتعطى نتائج مضللة وغير حقيقية . ويمكن التغلب على هذه المشكلة بالعناية في اختيار المواد الداخلية (IS) المناسبة او استخدام مادتين قياسيتين . وهناك بديل ممتاز يتمثل في استخدام الصور المشعة من المبيدات

المطلوب تحليلها كمواد قياسية . ولا يمكن انكار مميزات استخدام المواد القياسية الداخلية والتي تتمثل في الآتي : لا تعتمد على معدلات الاسترجاع والتغيرات التي تحدث فيه حيث يمكن التغاضي عن القصور في كفاءة الخطوات المتتابعة الفردية . ولا تعتمد بصورة مؤثرة على المهارات الفردية للقائم بالتحليل ، ومن المميزات ايضا ان كل عينة لها معدل الاسترجاع الخاص بها وهذا لا يستدعي اجراء الاسترجاع على عينات خاصة اضافية ، وفي التقدير المتعدد للمخلفات يمكن استخدام ازواج من المركبات القياسية الداخلية (IS) بحيث تمثل بعض اقسام المبيدات ، وتتميز هذه الطريقة بعدم الحاجة الى قياس حجم المحلول النهائي والتي تركز الى نقطة او نقطتين ، ولا يمكن التغاضي عن نقطة الضعف الخاصة بعدم تزويد نظم التحليل الاوتوماتيكية بما يسمح بالعمل مع هذه الحجم الصغيرة .

وفي مجال طرق التحليل الكروماتوجرافي لا توجد اية إختراعات بارزة في الافق ولو ان هناك تطورات مشجعة . واستمرار التقدم الكبير الذي تحقّق في الكروماتوجرافي السائل لم يحقق الهدف المنشود نظرا لعدم توفر الكاشفات النووية المتخصصة . واستخدام الكاشفات الكهروكيميائية (مع مشاكلها المتصلة في تلوث الالكترود) والكاشفات الضوئية ستظل صالحة لمجاميع قليلة من المبيدات . وحديثا تم اختراع كاشف ثلاثي يمكنه التقدير المتتابع عن طريق امتصاص الاشعة فوق البنفسجية والفلوروسنت والتوصيل في خلية واحدة . وهناك تساؤلات عن احتمالات دمج هذا الكاشف مع الكاشفات الاخرى مثل اللهب الأيوني وصائد الالكترونات . وكفاءة الـ HPLC ليست محل تساؤل نظرا للثقة الكبيرة في النتائج التي يعطيها عن المخلفات الا انه في تطوير مستمر في اتجاه الكشف عن مواد للفصل في الاعمدة وهذه المواد تشتمل على الاوساط المعكوسة من البوليمرات الثابتة لفصل المركبات القطبية ومثال ذلك التطور الذي أحدثته شركة Interaction Chemicals Inc. كما يعرف بالوسط الكبير Macrophase MP-1 . ولأن أصبح التقدير الكمي ممكنا نتيجة لدمج الكروماتوجرافي السائل مع طيف الكتلة

في الوقت الحالي يستخدم نظام HPLC مع الاعمدة التقليدية ذات الثقوب الواسعة ذات القطر الداخلي ٤ - ٥ ملميمتر ولو ان هناك ميل مستمر لاستخدام الاعمدة ذات الأقطار القليلة الاقطار الداخلية . ولقد استحدثت ثلاثة انواع من الاعمدة تسمى الاعمدة المملوءة ذات الثقوب الضيقة أو القليلة ، الاعمدة المملوءة ذات الانابيب الشعرية الدقيقة والاعمدة الشعرية ذات الانابيب المفتوحة . وجميعها تعرف او توصف على انها « اعمدة دقيقة الثقوب Microbore columns » وفي الوقت الحالي اتضح ان الاعمدة ذات الثقوب الضيقة أكثرها ملائمة للعمل الروتيني وكذلك ثبت ان اعمدة الـ HPLC التقليدية ضرورية بشرط ان تكون ذات اقطار داخلية قليلة .

المطلوب الحصول على كثير من الخبرات من جراء التحليل الروتيني تمكن من اختبار حقيقة ما يوجه لنظام الاعمدة ضيقة الثقوب من انتقادات . من المعلوم ان اجهزة HPLC ليست مناسبة بوجه عام للعمل بهذه الاعمدة حيث انها تتطلب تحويلات مكلفة جدا من قبل القائم بالتحليل .

من جهة اخرى يمكن بهذا الاسلوب توفير الكثير من التكاليف لصالح المستهلكون . من اوجه النقد كذلك ان تقليل حجوم منحنيات القياس Peak volumes تمكن من الكشف عن حدود منخفضة من المخلفات (زيادة في حساسية الكتلة Mass sensitivity مما يستوجب دمج الاعمدة السابقة معا حتى يمكن التغلب وحل مشاكل الفصل الصعبة حيث تحقق هذه الطريقة الفعالة فصلا سريعا كما ان تقليل اقطار الاعمدة يسهل برمجة الحرارة . ولقد اظهرت الاعمدة ضيقة الثقوب مميزات واضحة للتوافق مع انواع مختلفة من طرق التحليل .

على الرغم من ان الكروماتوجرافي الغازي يعتبر تكنيك ناجح الا انه ما زال يقدم جديدا كل يوم عن طريق تحقيق مستويات كفاءة عالية . وهذا تحقق من جراء تحسين وتطوير تكنولوجيا الاعمدة والكاشفات . ولقد استقر الرأي على اختيار الاعمدة الشعرية واسعة الثقوب بالأقطار الداخلية التي تتراوح من ٣٢ - ١ ملليمتر . وفي منطقة ٥٣ ملليمتر وهذا يعتبر بديلا للممود المعبأ . من اهم مميزات هذه الاعمدة السرعة وتكرار الحصول على نفس النتائج Reproducibility وخمول السطح والثبات الكيميائي والحراري ونقص التسرب وسهولة التغييرات الداخلية في الجهاز خاصة مع اعمدة السليكا المرتبطة مع الاوساط الثابتة ذات الروابط الكيميائية . ولقد أدت امكانية تعديل سمك الفيلم (أكثر من ٥ ميكرومتر) الى الحصول على اعمدة تمكن من تحليل مغاليط المواد شديدة التطاير او عالية الغليان وكذلك إمكان التحليل مع مختلف الاعمدة ذات السعات المختلفة . لقد ثبت ان الدمج بين الاعمدة التقليدية والمعبأة مع الاعمدة الشعرية واسعة الثقوب واستخدام الكشف المنمذج بين N/P/S (نتروجين / فوسفور / كبريت) ذات مستقبلا مشجعا .

هناك تكنيك اخر جديد يسمى الكروماتوجرافي السائل فائق الحد Supercritical fluid chromatography في الاعمدة المعبأة والشعرية . ولو ان هذا التكنيك نفسه لا يعتبر جديدا بالمعنى المفهوم الا ان الاهتمام به بدأ يتعاظم في الوقت الحالي واصبح المختصون ينصحون باستخدامه في تحليل مخلفات المبيدات . حيث ان الـ SFC لا يعاني من الحدود الخاصة بالتطاير كما هو الحال في الكروماتوجرافي الغازي ، حيث يتمكن هذا التكنيك من تحليل المركبات المتحولة بالحرارة والغير متحولة بالوسائل الاخرى Underivatized وكذلك المواد الذائبة ذات الازان الجزيئية العالية بدرجة تفوق الكروماتوجرافي الغازي العادي . والعمود الشعري في تكنيك SFC يتوافق مع انواع عديدة من كاشفات الـ GC العادي و HPLC كذلك . وهناك دلائل على ان مقدرة الـ SFC تفوق الـ HPLC بخمسة اضعاف وكذلك سرعة التحليل تزيد بمقدار من ٥ - ١٠ امثال ما يحدث مع الـ HPLC . وهناك امكانية استخدام الـ SFC في إستخلاص المخلفات المرتبطة في عينات التربة والنبات .

لقد حلت طريقة الكروماتوجرافي على الاالواح (TLC) محل الكروماتوجرافي الورقي استنادا الى صلاحيتها واساطتها للتحليل الكيفي والكمي للمبيدات بالرغم من الصعوبات في تمثيل البقع

مع توفر الاجهزة المتطورة والخدمات وقطع الغيار والمواد المستهلكة . وفى هذا المقام نود التركيز على اهمية وضرورة الاستمرار فى العمل وتطوير هذا الاسلوب وعدم تناسيه او اهماله .

من اكثر الطرق تشجيما الكروماتوجرافى على الالواح المتطورة والذي يطلق عليه الطريقة الالية المتعددة المتطورة (AMD) Automatic Multiple Development وهو البرنامج المحسن لذلك الذى وضعه Perry والمسمى باسمه عام ١٩٧٣ . فى هذه الطريقة يتعرض لوح الـ TLC للعديد من المعاملات الكروماتوجرافية ، حيث يجرى على الكروماتوجرام من ١٠ - ٢٥ دورة منفردة ويزداد طول الدورة عن سابقتها بمعدل زيادة ثابت من ٣ - ٥ ملليمتر . وبين الدورات يتم ازالة الوسط المتحرك من الكاينة ثم يجفف اللوح عن طريق التفريغ فى الكاينة ثم معاودة تزويد الكاينة بالوسط المتحرك . غالبا ما تستخدم المواد الازاحية التى تدرج فى قطبيتها . وهذا التكنيك يحدث ما يسمى بالتأثير المركز حيث تتكون حزم تمثل المركبات قريبة جدا من بعضها على الكروماتوجرام . وفى البرنامج الذى تضمن ٢٥ خطوة تستغرق كل العملية الكروماتوجرافية ٤ ساعات .

الطريقة الالية المتعددة AMD تسمح بتدرج الازاحة على السليكا جيل فى نظام HPTLC مما يغطي مدى واسع مع القطبية . والنظام الكامل الاوتوماتيكي متوفر حاليا على النطاق التجارى (CAMAG) . وتستخدم المركبات او المستخلصات على صورة شرائط بطول ٤ ملليمتر بالوسائل الالية ومن ثم يمكن تنفيذ ١٨ كروماتوجرام على لوح واحد فقط . وتقييم وتعرف الكروماتوجرامات باستخدام فاحص الالواح الكروماتوجرافية (TLC Scanner) المتدمج مع رسام متعدد الالوان وحاسب آلى . التقدير الكمي لكل كروماتوجرام متعاقب يتم عن طريق قياس الانبعاث فى منطقة الضوء المرئى او فى نطاق الاشعة فوق البنفسجية على الموجات الضوئية المناسبة او بقياس الفلوريسينس . فى هذا السبيل يميز المركب ليس فقط بالمسافة التى تحركها على اللوح ولكن بمعدل الامتصاص على الموجات الضوئية المختلفة . وتقييم لوح واحد به ١٨ كروماتوجرام بهذه الطرق تستغرق ٣٥ دقيقة لكل موجة ضوئية .

لقد استخدم هذا التكنيك بنجاح منقطع النظير فى المعامل لتقدير مخلفات المبيدات فى الماء الارضى وماء الشرب فى حدود تركيزات اقل من واحد جزء فى البليون ppb . كما يستخدم تكنيك AMD لتحليل المخلفات فى المواد النباتية بادماجه مع عمود HPLC الضيق المسامية الذى يعطى معدل انسياب مقداره ٣٠ ميكروليتر/دقيقة والذي يسمح بالإستخدام المباشر على لوح الكروماتوجرافى TLC .

السهولة والتوقعات : Ease and Expectations

مع كثرة الكلام عن الطرق المبسطة لتقدير المخلفات يجب توضيح مفاهيم بعض المسميات ، فمن المتفق عليه ان تبسيط طريقة التحليل مر بثورة كبيرة منذ فترة طويلة لأنه من الصعب ان يعرض القائمون بالتحليل انفسهم للنقد الذاتى العنيف . وليكن معلوما ان الفجوة بين التعقيد والتبسيط يمكن تجاوزها بتقليل الاحتياجات وهذا يجرنا للقول بان الطرق البسيطة لا يمكن ولن تكون ابدا بديلا للطرق المتطورة .

بعيدا عن العلاقة بين التكلفة والكفاءة نقرر ان المطلوب هنا هو تطوير طرق متكاملة لتقدير المخلفات تتميز بسهولة التداول دون الحاجة لاستخدام الاجهزة المعقدة . يجب التفرقة هنا بين الطرق المبسطة التي تعمل بشكل مرضى بواسطة ذوى الخبرة الكبيرة فى مجال التحليل وبين الطرق التي تتطلب مهارة اقل . الطرق التي تستخدم لتحليل العينات الحقلية يجب ان تحقق بعض المتطلبات الاخرى عن تلك التي تستخدم للأغراض الروتينية . ومن ثم يمكن القول ان الطرق المبسطة تستخدم اساسا لأغراض الفرز Screening وليست كأساس للاجراءات والتحليلات الرسمية . لقد تم توصيف بنود وشروط الطرق التي يمكن اعتبارها مبسطة "Simplified" بواسطة لجنة مخلفات المبيدات (CCPR) عام ١٩٨٥ . ومن بين ٢٩٠ طريقة موصى بها من قبل الـ CCPR تم اختيار ٢٢ طريقة مبسطة تبعا لهذه المعايير . من الواضح ان معظم هذه المعايير يمكن تحقيقها بشكل مرضى من خلال وسائل قليلة مثل الكروماتوجرافى الالواح TLC والطرق اللونية "Colorimetry" .

فيما يلى معايير تقسيم طرق التحليل على انها مبسطة Criteria :

- استخدام كروماتوجرافى الالواح TLC والطرق الاسبكتروفوتومترية وكذلك الكروماتوجرافى الغازى الاساسى او HPLC فى خطوة التقدير .
- استخدام الحجم البسيطة من للمذيبات .
- لا تتطلب او تتطلب بشكل اولى عمليات التنظيف Clean-up .
- لا محتاج او محتاج للقليل جدا من الجواهر الكشفية .
- تكون الطريقة نشيطة او عالية الكفاءة بدرجة كافية تمكنها من الصمود ولو قليلا امام الظروف العملية النموذجية .

لقد اصبح كروماتوجرافى الالواح TLC فعلا اسلوبا واسع الانتشار فى هذا المجال نظرا لاستخدامها الواسع بواسطة المحللين اللذين لا يملكون وسائل اخرى . وفى المقابل قل الاهتمام بالطرق اللونية Colorimetric methods مما يعد خسارة كبيرة فى مجال تحليل المخلفات . يتفق الجميع على ان نقص التخصص فى الطرق اللونية يمكن تعويضه فى حالات كثيرة ولو جزئيا عن طريق اختيار طرق متخصصة نسبيا لما قبل التنظيف وهى متوفرة حاليا . كذلك يجب الاهتمام مرة اخرى بالطرق التي اهتمت مثل التقطير المرافق بالبخار او الاندفاع "Sweep" . ولسوء الحظ انه امكن تحقيق تقدم بسيط فى اتجاه تطوير اختبار بسيط للعينات الحقلية والتي لا تتطلب بالضرورة خبرة فى التحليل لاستخدامها . وعلينا ان نتنظر بالترقب ما سوف تسمعه عنه تجارب استخدام الاختبار الورقى "Paper technique" وعلى سبيل المثال تذكر الانزيم Enzyme tickets او تطوير الاختبارات الحيوية المعروفة بالـ Immuno-assays للاستخدام الميداني خارج المعامل .

والآن جاء دور الكلام عن المجالات التي ما زلنا بعيدين عن تحقيق نجاحات حقيقية فيها . ٢

وهذه تتمثل فى علم امكانية اجراء الاستخلاص الالى والتنظيف الالى للمستخلصات والتى تمكن من تبسيط الخطوات واسراع عمليات التحليل . فى هذا المقام يصبح من المثير للدهشة متابعة تطور استخدام الانسان الالى فى معامل التحليل ومدى تحقيق قيامها ببعض الخطوات الضرورية قبل التقدير النهائى وهذا يمكن اجراؤه بجهاز واحد او من خلال سلسلة من العمليات ويرجع الانسان الالى بحيث يتوافق مع عمل اجهزة التحليل .

والسؤال الان ... على أى شىء نكافح ؟ على القائم بتحليل المخططات عدم الاهتمام بمدى تكلفة الكشف عن الآثار من خلال عمليات التحليل . وعليهم الاهتمام بتأدية الواجبات المنوطة بهم خاصة تفسير ما يجده وتمثيل النتائج . وعليهم ايضا العمل على تطوير الطرق الموجودة فعلا . وهذا يزيد من كفاءة ومقدرة معمل التحليل . يجب ان توضع معايير احصائية للتأكيد وقبول النتائج . ما زالت طرق الاسترجاع فى حاجة الى تطوير كبير وكذلك ضرورة اللجوء الى الاختبارات التأكيدية فى معامل اخرى . يجب ان يجرى ذلك بصورة الزامية اجبارية كأساسيات لوصف طرق التحليل خاصة اذا كانت لمركب واحد .

فى عام ١٩٨٥ عقد مؤتمر فى مدينة بتسبرج عرض فيه ١٢٠٠ بحث من قبل ٢٠٠٠ مختص فى مجالات التحليل من بينها ١٢ ورقة فقط عن المبيدات . فى النهاية لم يمكن استنتاج ما اذا كنا نعرف كل شىء او لا نعرف شىء على الاطلاق فى هذا المجال .

REFERENCES قائمة المراجع

These references are given as recent examples only, and no attempt has been made to achieve a fuller literature coverage of the topics treated in this paper.

1. Official Journal of the European Communities, L 229, Vol. 23, 11-29, Aug. 30, 1980.
2. Bates, J. A. R. and S. Gorbach, *Pure & Appl. Chem.* 54, 1361-1450 (1982).
3. A. Ambrus and H. -P. Thier. *Pure & Appl. Chem.* 58, 1035-1042 (1986).
4. FAO/WHO, FAO Plant Production and Protection Paper 56, p. 4-5, Rome, 1984.
5. CCPR, Guide to Codex Recommendations Concerning Pesticide Residues, FAO/WHO, Rome a) Part 8, CAC/PR 8 (1985); b) Part 5, CAC/PR 5 (1984); d c) Part 6, CAC/Pr 6 (1984), d) Part 2, CAC/PR 2 (1985).
6. W. E. Westlake and F. A. Gunther, *Residue Rev.* 18, 175-217 (1967).
7. R. S. Nicolson, *J. Assoc. Publ. Analysts* 24, 27-39 (1986).
8. LGIFAP, Residue Committee, Doc. C. 14533, October 3, 1985.
9. FAO/WHO, CCPR meeting 1986, Room Document 9.
10. DFG, Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, verl. Chemie, Weinheim, Abschnitt XI (1982).
11. J. Sherma and G. Zweig, *Anal. Chem.* 57, 1R-15R (1985).
12. R. J. Hemingway et al., *Pure & Appl. Chem.* 56, 1131-1152 (1984).
13. J. R. Gant and P. A. Perronne, *Intern. Clinical Prod. Rev.* 5, No. 3, 40-47 (1986).
14. D. McBlane and J. R. Benson, Eine Reversed-phase-Säule mit einem C18-derivatisierten polymerd, ict Handelsgesellschaft, Antoniterstr. 27, D-6230 Frankfurt 80.
15. R. Gill and B. Law, *J. Chromatogr.* 354, 185-202 (1986).
16. H. M. McNair, M. W. Ogden and J. L. Hensley, *Intern. Lab.* 16, No. 1, 14-21 (1986).
17. O.L. Duffy, *Intern. Lab.* 16, No. 3, 78-87 (1086).

18. R. T. Wiedemer, S. L. McKinley and T. W. Rendi, Intern. Lab. 16, No. 4, 68-77 (1986).
 19. W. Blab, private communication (1986).
 20. C. M. White and R. K. Houck, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun. 9, 3-17 (1986).
 21. S. W. Weight and R. D. Smith, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun. 2, 73-77 (1986).
 22. P. Capriel, A. Haisch and sh. U. Khan. J. Agric. food Chem. 34, 70-73 (1986).
 23. T. E. Beesley, J. Chromatogr. Sci. 24, 525-531 (1985).
 24. G. BEcker, D. Eichler, H. -G. Nolting and H. -P. Thier, Die Dünnschichtchromatographie in der Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln und Metaboliten, DFG-Forschungsbleicht, in press.
 25. D. E. Jaenchen, in R. E. Kaiser (ed.), Proc. 3rd Intern. Symp. Instrumental High-Performance Thin-Layer Chromatography, Würzburg, West Germany, April 17-19, 1985. p. 71-82, Inst. for chromatography, D-6702 and D-6704, W. Germany (1985).
 26. K. D. Burger and H. Tengler, in R. E. Kaiser (Ed.), Planer Chromatography, vol. I. P. 193-203, dHuethig Verlag, Heidelberg, Basel. New York (1986).
 27. K. D. Burger, private dcommunication (1986).
 28. J. R. Strimitis and G. L. Hawk (Ed.), Advances in laboratory Automation Robotics 1985, Zymark Corporation, Hopkinton, MA, USA.
 29. C. H. Lochmüller, K. R. Lung and M. R. Cushman, J. Chromatogr. Sci. 23, 429-436 (1985).
 30. K. W. C. Burton, W. O. George and B. C. Thomas, Analyt. Proc. 22, 164-168 (1985).
- DDFG = Ceudtche Forschungsgemeinschaft, Postfach 20 50 04, D-5300 Bonn 2.
- GIFAP = Groupment International des associations Vationles de Fabricants de produits Agrochimiques, Avenue Hamoir 12, B-1180 Brussels.

الفصل الثالث والعشرون

الموقف الراهن لفن تحليل المخلفات المتعددة :

- مقدمة .
- طرق الاستخلاص .
- الاستخلاص بالاميتونيترييل .
- الاستخلاص بالأسيتون .
- طرق استخلاص اخرى .
- طرق التنظيف .
- طرق التحليل والتأكيد .
- * طرق الكشف .
- * الاوساط الثابتة السائلة .
- * الطرق التأكيذية

الموقف الراهن لفن تحليل المخلفات المتعددة

Present state of the Art of Multi-residue Analysis

مقدمة :

طرق تحليل المخلفات المتعددة تقدم الوسائل الأساسية للقائم بالتحليل لتقدير المخلفات في العينات ذات التاريخ المعلوم وبدرجة أكثر تلك المجهولة الخفية . في التقديرات الروتينية ينحصر الهدف في الغزلة السريعة والتعريف والتحديد الكمي لأكبر عدد من المخلفات . وهذا يتطلب التحسين والتطوير المستمر في طرق الاستخلاص والتنظيف والكشف مما يؤدي إلى تحسين الطرق السابقة وتطوير طرق جديدة . في هذا المجال تتناول المقارنات بين الطرق التي يشار إليها بالاختصارات :

Official Methods of Analysis, 13 th Ed, AOAC, Washington, DC, = AOAC (1980).

Pesticide Analytical manual, Vol. I, Food and Drug Administration = FDA Washington, DC, (1979).

Canadian manual on Analytical methods for pesticide Residues in Food, Information Canada, Ottawa, Canada, Analytical methods

Sissons * Abbot * Rueckstansanalytik *

Specht * Ambrus

: Extraction procedures طرق الاستخلاص

لقد درس باستفاضة كبيرة كفاءة عملية الإستخلاص مع نظم مختلفة من المذيبات العضوية والهدف المنشود يتمثل في ايجاد نظم مذيبات قادرة على انتزاع مخلفات المبيدات التابعة للمجاميع المختلفة في نفس المستخلص . يعتبر الحصول على الظروف الملائمة للفصل الجزئي للعديد من الكيمائيات ذات المدى الواسع من القطبية من اهم التحديات التي تواجه طرق الاستخلاص الناجحة والتي تمكن من الانتقال الكمي من عينة المستخلص المائي الى الوسط العضوي . لتحقيق ذلك تستخدم طرق تعتمد على تجانس العينة في مذيب واحد او مخلوط من مذيبين او متجانسين منفصلين في مذيبات مختلفة أحدهما للمركبات القطبية والاخر للغير قطبية . بعد الإستخلاص يجرى فصل جزئي بمذيب واحد او بمذيبين منفصلين كما حدث في خطوة التجانس . ويعتبر مذيبى الاسيتونيتريل والاسيتون من أكثر المذيبات شيوعا في الاستخلاص المتجانس . لقد بنى استخدام هذين المذيبين على اساس ان المذيب المناسب لإستخلاص المبيد هو الذى عنده القدرة على الامتزاج بالماء والمذيبات غير القطبية . ومن ثم لا يكون المذيب المستخلص الفعلي مجرد مذيب قابل للمزج فقط ولكنه عبارة عن محلول مائي من العينة والمذيب المستخدم .

: Acetonitrile extraction الاستخلاص بالاسيتونيتريل

يناسب الإستخلاص بالاسيتونيتريل مدى واسع من انواع مبيدات الآفات وغيرها من المركبات . تحتوى طرق AOAC و FDA على نتائج التجارب الشاملة لمعدلات الاسترجاع لأكثر من ٢٠٠ مبيد مختلفة بالإضافة الى الكيميكاليات الصناعية . فى هذه الطرق فقد العديد من المركبات الذائبة فى الماء (القطبية) بصورة جزئية او كلية خلال استخلاص المبيدات من الاسيتونيتريل المائى مع ايشر البترول وكذلك خلال الفصل الكروماتوجرافى على الفلوريسيل . ولتقليل هذا الفقد استخدم Storherr ومعاونوه الميثيلين كلوريد بدلا من ايشر البترول فى خطوة الفصل الجزئى . وبذلك نحصل على استرجاع عالى للمبيدات الفوسفورية القطبية . عند دمج طريقة ستورهر مع طريقة الـ FDA زاد عدد المركبات التى كشف عنها ويؤخذ على هذه الطريقة طول الوقت وزيادة التكاليف .

بدلا من الميثيلين كلوريد استخدم Abbott ومعاونوه مذيب الكلوروفورم فى الفصل الجزئى بالاسيتونيتريل . لتحسين استخلاص المبيدات الفوسفورية العضوية عالية القطبية وكذلك نواتج تمثيل المبيدات اقترحت عدة مخبرات بسيطة على هذه الطريقة . أدى تشبيع مستخلص الاسيتونيتريل بمحلول ١٠٪ كبريتات الصوديوم واجراء الفصل الجزئى بعد ذلك بمذيب الكلوروفورم إلى تحقيق كفاءة عالية .

: Acetone extraction الإستخلاص بالاسيتون

استخدم الاسيتون فى العديد من الطرق نظرا لبعض المميزات التى يتمتع بها فهو غير سام وتسهل تنقيته وتطايه وقلة تكاليفه بالمقارنة بالاسيتونيتريل وبعض المذيبات الأخرى . بالإضافة لذلك يمكن استخدام الاسيتون بخلاف الاسيتونيتريل مع العينات ذات المحتوى العالى من السكر نظرا لعدم تكوينه لنظام مزدوج الوسط مع الماء فى وجود السكر .

لقد ثبت صلاحية الاسيتون من الناحية العملية فى استخلاص مدى واسع من انواع مختلفة من المركبات والعينات ، الجدول رقم (٢) يشتمل على طرق لأكثر من ١٠٠ مبيد . من الاساسيات ان مستخلصات الاسيتون لأية عينة تحتوى على أى من المبيدات المستخدمة فيما عدا المحتوية على شحنة ايونية دائمة . فى العديد من الطرق يجرى تشبيع مستخلص الاسيتون بمحلول كلوريد او كبريتات الصوديوم بواسطة الفصل الجزئى فى الميثيلين كلوريد . وهذا حقق فصل جزئى مناسب لمختلف المركبات علاوة على سرعة الفصل . كذلك اعلن عن استخدام الكلوروفورم ونخلات الايثانل فى خطوة الفصل الجزئى بدلا من الميثيلين كلوريد .

: Other extraction procedures طرق استخلاص اخرى

عادة ما تستخدم المذيبات مثل الايثانل اسياتات والبنزين او الميثانول والميثيلين كلوريد فى استخلاص المركبات الفوسفورية العضوية . طريقة Watts المحورة والتى فيها تستخلص العينة

بخلات الايثايل ثم ينظف المستخلص مباشرة فى عمود يحتوى على الشاركول/اكسيد المغنسيوم/ السيليت اعطت معدلات استرجاع جيدة للمركبات الفوسفورية العضوية عالية القطبية . لقد وصف Laws and Webley طريقة تم فيها الاستخلاص بواسطة الميثيلين كلوريد وتبع ذلك خطوتين للفصل الجزئى الاولى مع ايثر البترول للمركبات التى تذوب فى البترول والثانية مع مخلوط الميثانول والماء للمبيدات الحشرية الفوسفورية التى تذوب فى الماء . لقد استخدم Estres ومعاونوه مخلوط من خللات الايثايل والميثيلين كلوريد فى الاستخلاص مبتوعا بخطوات من الفصل الجزئى للمركبات الذائبة فى الماء وتلك الغير قطبية وقاما بتدوين معدلات الاسترجاع لاكثر من ٤٠ مركب تتبع المجموعات المختلفة من مبيدات الآفات .

النظم المحتوية على مخلوط من المبيدات التى تقبل وتلك التى لا تقبل المزج مع الماء لم تستخدم على نطاق واسع نظرا لمشاكل الاستحلاب والصعوبات التى تواجه فصل كميات معقولة للتحليل . لقد استخدم Sissons ومعاونوه مخلوط الاسيتون والهكسان لاستخلاص المبيدات الغير قطبية دون اية مشاكل تتعلق بالاستحلاب وكذلك الاستخلاص المائى المنفصل للمركبات التى تذوب فى الماء .

طرق التنظيف : Clean-up procedures

لا توجد طرق نموذجية قادرة على تنظيف كل المستخلصات النباتية المرافقة من المبيدات ، ومن ثم فانه لتحقيق كلا التنظيف المناسب لمستخلصات المحاصيل المختلفة وفى نفس الوقت الحصول على نسب استرجاع عالية المدى واسع من مبيدات الآفات تستخدم طرق تنظيف متوازنة وهذا يتطلب وقت طويل والمدى الكبير من مراحل الفصل والازاحة تساعد فى التعريف . من أكثر مواد الادمصاص استعمالا فى اعمدة التنظيف الفلوريسيل والالومينا والشركول والسليكاجيل وغيرها من المخاليط المختلفة . كذلك استخدم كروماتوجرافى الجيل المنفذ بنجاح مع المواد الدهنية وغير الدهنية . والفلوريسيل يمكن من الحصول على مدى واسع من المركبات فى العينات المختلفة ولكن يحدث فقد للمواد الأكثر قطبية . بتغيير سائل الازاحة يمكن استرجاع المبيدات الاكثر قطبية .

لتحليل المركبات الفوسفورية العضوية عالية القطبية يستخدم الكربون المنشط فى عملية التنظيف . ولقد ثبت صلاحية وكفاءة مخلوط الادمصاص المكون من الكربون المنشط / اكسيد الماغنسيوم / الارض الدايونمية فى تنظيف العينات ذات المحتوى المالى من الكلوروميثيل ولكنها غير ملائمة للتخلص من الشمع النباتى . من المعروف ان استخدام الالومينا تستهلك الكثير من الوقت وقد امكن التغلب على هذا الوضع باستعمال كميات صغيرة من مواد الادمصاص والازاحة بحجم صغيرة من المذيبات والضغط بالنترجين . عندما استخدمت الالومينا القاعدية ظهر حدوث تحلل مائى لبعض المبيدات الحشرية الفوسفورية العضوية نتيجة للقلوية بينما لم يحدث ذلك مع الالومينا المتعادلة . لقد ثبت امكانية ازالة المبيدات من المستخلصات بواسطة الالومينا فقط او متبوعة بالسليكا جيل . تحقق تنظيف مقبول مع العديد من المستخلصات النباتية من خلال الفصل الجزئى بالمذيبات

مثل الميثيلين كلوريد والكلوروفورم وخلات الايثايل . وهذه المستخلصات نظفت بدرجة كافية لتحليل المركبات الفوسفورية العضوية المحتوية على النتروجين والكبريت بالكاشفات المتخصصة في الكروماتوجرافي الغازي . من هنا يمكن القول ان صلاحية طريقة الكروماتوجرافي الغازي GC تعتمد على الاستخلاص والكروماتوجرافي . في المقابل فانه بسبب الطبيعة الغير متخصصة نسبيا للكاشفات صائدات الالكترونات EC فانه يجب اجراء تنظيف اضافي لتحليل المركبات الكلورينية العضوية . وبناء على خبرة مؤلفي هذا الجزء Arto kiviranta فنلندا مع أكثر من ٢٠٠٠٠ عينة من مختلف المحاصيل بطريقة Luke ثبت ان معظم المستخلصات النباتية (باستثناء بعض الجذور والخضروات عالية الكلوروفيل) ليست بحاجة لعمليات التنظيف . فالمستخلصات النباتية لا تؤثر على كفاءة كاشفات EC المتطورة الحديثة بدرجة كبيرة . وعلى سبيل المثال فان استخدام الكاشف المحلل للالكترونات ذات التخصص الهالوجيني Halogen specific Hall electrolytic conductivity detector يقلل من الحاجة للتنظيف عند تحليل عينات الكيمياءات المحتوية على الهالوجين .

طرق التحليل والتأكيد Analysis and confirmation procedures

* طرق الكشف Mode of detections

لا بد من التأكيد عند الفصل والكشف والتقدير الكمي لمبيدات الآفات على ضرورة استخدام الكروماتوجرافي الغازي/ السائل المزود بالانواع المختلفة من الكاشفات مثل ECD و FPD و AFID و NPD وكذلك HECD (جدولي ١ و ٢) . ولقد ادى تطوير الكاشفات في السنوات الاخيرة الى الحصول على انواع اكثر تخصصا وحساسية لتحليل الكيمياءات المحتوية على الفوسفور والنتروجين والكبريت . ومثال ذلك الكشف عن النواتج الايوليه الضوئية . من اهم مميزات الكروماتوجرافي رقيق الطبقة (TLC) سرعة الاجراء وقلة التكلفة ومن الميوب قلة الحساسية والكفاءة المحدودة للتقدير الكمي . ومن ثم يستخدم الـ TLC في البداية لاغراض الفرلة والتأكيد . وتتضمن طرق الكشف عن المركبات الكلورينية العضوية التشعيع بتترات الفضة والاشعة فوق البنفسجية (UV) بينما استخدم التثبيط الانزيمي وغيره من الطرق للمركبات الفوسفورية العضوية . ولقد اختبر Ambrus ومعاونوه ١٨٨ مبيدا (الفوسفورية ، الكاربامات ، البيوريا ، الترايزين ، المبيدات الفطرية ، المركبات المحتوية على الهالوجين) بخمسة طرق كشفية ونجح في تقدير الكميات الدنيا بكل طريقة . ومن اكثر الاوساط الصلبة (الثابتة) الشائعة للـ TLC هي السليكا جيل واكاسيد الألومنيوم .

لقد ازداد استخدام الكروماتوجرافي السائل ذو الضغط المرتفع (HPLC) لتحليل المركبات الغير ثابتة والغير متطايرة وذات القطبية العالية . لقد تحقق ذلك نتيجة للتحسن الاخير الذي طرأ على حساسية الكاشفات وطرق التحولات الكيميائية بعد المرور من عمود الكروماتوجرافي .

* الأوساط الثابتة السائلة Stationary liquid phases :

فى الكروماتوجرافى الغازى يوجد العديد من الأوساط السائلة الثابتة ولكن معظم فصلات مخاليط المبيد يمكن تقديمها بثلاثة أو أربعة أنواع من القطبities المختلفة . من أكثر الأوساط الشائعة الغير قطبية DC-200 و SE 30 ومتوسطة القطبية QF-1 والقطبية DEGS وتختلف سلاسل الـ OV من الغير قطبى (1 - OV) الى القطبى (225 - OV) أو المخاليط مثل DC-200/QF-1 كما هو واضح فى جدول (٣) فان إستخدام عملية متعادلة الحرارة isothermal فان تحليل واحد يتطلب فترة طويلة نظرا لطول فترة الفصل retention time الخاصة بقمة المنحى الأخير كما ان الاستجابة ستكون منخفضة . ولتقليل هذه الظاهرة تستخدم درجات حرارة عالية فى الأعمدة او يعمل برمجة للحرارة او يقصر طول العمود المستخدم . ولقد استعمل Ambrus ومعاونوه اعمدة بطول ٤٥ - ٩٠ سم لعمليات الثربلة وأشاروا الى ان قلة قوة فصل الأعمدة القصيرة تؤدى الى خلق قليل من العميوب بدرجة تفوق للمميزات . ومن ثم كان وقت تكرار عملية التحليل اقصر وكذلك كانت اقل الكميات الممكن الكشف عنها بنفس الكاشف تقل بمقدار ٥ - ١٠ مرات عن الحالة العادية كما ان استخدام حرارة عمود واطية تمكن من تحليل المركبات الحركية مثل الكاربامات واليوربا .

* الطرق التأكيديّة Confirmatory procedures :

عادة تجرى تأكيد كمي ونوعي لنتائج التحليل الأولية باستخدام واحد على الاقل من الأعمدة البديلة ذات القطبية المختلفة . بالمقارنة بالأعمدة المملوءة تعتبر الأعمدة الشعرية ممتازة فى هذا الخصوص نظرا للقوة العالية للفصل . لقد وصف Ambrus ومعاونوه نظام يتم فيه تأكيد عمود واحد للكروماتوجرافى الغازى GC بالتكامل بين الـ TLC ومكونات ازاحة السليكا جيل . بالإضافة للعمود البديل توجد طرق تأكيدية متعددة تعتمد على الـ TLC والتحول الكيميائى وقيم التوزيع الجزئى للإستخلاص (P. values) .

جدول (٣) : الوقت الأقصى لتحليل مخلوط قياسى على بعض الأعمدة .

مادة العمود	انتساب الغاز ملليتر/دقيقة	حرارة العمود (°م)	ميعاد ظهور آخر منحى (دقيقة)
١٠ ل DC-200 (١,٨٢ متر)	١٢٠	٢٠٠	٥٥
١٠ ل DC-200 / ١٥ ل PF1 (١,٨٢ متر)	١٢٠	٢٠٠	٩٨
٣ ل OV-225 (١,٨٢ متر)	٦٠	٢٠٠	٥٠

جدول (١) طرق تعتمد على مستخلصات الاستنزابل .

Ref.	Sample material and extraction/Partition	Clean-up column/eluate	Limits of detection (ppm)	Compounds	Remarks
FDA (2a) AOAC d(1a)	non fatty AOAC official status : 42 crops e : acetonitrile or H ₂ O/acetonitrile p : pet. ether	c : Florisil e : pet/Et ethers (6, 15, 50%)	0.01 heptachlr. epox. 0.02 parathion others	recovery : 276 organochlorine, organophosphates, fungicides, herbicides, industr. chemicals 212 as above	det: GLC (ECD, TID, FPD, NPD), TLC saturation : said. NaCl-solution, large RRT-data for DC-200, DC-200/QP-1 and DEGS columns, large elution patterns for Florisil col. time demand 3-3 hr/sample
FDA (2b) AOAC (1a) FDA (2c) AOAC (1b)	fatty foods official status : 4 non fatty e : acetonitrile or H ₂ O/acetonitrile p : pet. ether	as above c : Florisil e : CH ₂ Cl ₂ /acetoni- tile/hexane	0.02 heptachlr. epox. 0.13 parathion 0.01/0.02 0.02/0.13	162, organochlorine organophosphates, fungicides, herbicides, industr. chemicals 66 organophosphates, det: GLC (TID, FPD) 7 organochlorine	improved clean-up for fats and oils, improved recovery for more polar comp. as (1a)
FDA (2d) AOAC (1c) Storther (12)	non fatty c : acetonitrile or H ₂ O/acetonitrile p : CH ₂ Cl ₂	organophosphates : c : charcoal/MgO/ celite e : acetonitrile/ benzene organochlorine : c : Florisil e : pet./Et ether 2.5%	0.006-0.4 organophosphates, 0.002 parathion		recovery for non-polar, polar organophos- phates and their metabolites, used together method (1a), delayed Florisil clean-up for EC-detect- able compounds

Ref.	Sample material and Clean-up extraction/Partition	Limits of detection column/eluate	Compounds (ppm)	Remarks
Candian Manual (3)	non fatty e : acetonitrile or H ₂ O/acetonitrile p : H ₂ O/hexane or hexane	1) c : Florisil e : 1-5-30% CH ₂ Cl ₂ /hexane, 2-5-30% EtOAc/hexane 2) c : carbon-cellulose e : 1-1.5% acetonitrile/hexane 2 CHCl ₃ 3 benzene	c. 55 organochlorine, organophosphates, carbamates, fungicides, 40, as above	det : GLC (AFID, FPD, ECD), TLC acetonitrile distilled away before hexane partition or diluted with H ₂ O and saturated with Na ₂ SO ₄ solution, Ch ₂ Cl ₂ added to increase partition of more polar compounds, elution part. for Florisil and carbon-cellulose columns; improved Florisil elution for more polar comp. as (1a), RRT-data for DC-200, OV-210, DEGS, SE-30/ QE-1 columns
Abbot (5) Panel (13)	non fatty e : acetonitrile p : chloroform fatty foods e : hexane and acetonitrile p : Ch ₂ Cl ₂	no column clean-up 0.01 partition	c. 60 organophosphates and their polar metabolites	det : GLC (TID), total org. phosphorus, for non fatty, repeated acetonitr. extr. and saturation with 10% Na ₂ SO ₄ solut., recovers the most polar organophosph. time demand : c. 1 hr/sample

جدول (٧) : طرق تحديد على مستحضرات الاسيتون .

Ref.	Sample material and extraction/Partition	Clean-up column/eluate	Limits of detection (ppm)	Compounds	Remarks
FDA (42)	non fatty	no column clean-up for organo-	0.005	113 organochlorine, organophosphates	deter : GLC (FPD, HECI, NPD, ECD) saturation : NaCl
Luik (14, 15)	15 crops	phosphorus, -nitrogen and - sulphur compounds,		organophosphates and metabolites,	RRT-data for DEGS=column, time demand : 1 1/4 hr/sample
	e : acetone p : pet. ether/CH ₂ Cl ₂	delayed Florisil clean-up for EC-detectable compounds no column clean-up for organo-phosphates,	0.002	carbamates, fungicides, triazines 28 organochlorine, organophosphates	det : GLC (TID, ECD) sat : Na ₂ SO ₄ solution RRT-data for DC-200 column
Rueckstand. (41)	non fatty 22 crops e : acetone p : chloroform or CH ₂ Cl ₂	for organochlorine compounds : c : alumina e : pet. ether			
Reuckstand (4b)	non fatty	c : active carbon/silica gel	0.005	75 organochlorine, pyramphosphates, fungicides,	det : GLC (AFPD, FPC, ECD) sat : acid. Na ⁺ solution, RRT-data for SE-30, QF-1 col.
Becker (16)	25 crops e : acetone p : H ₂ O/CH ₂ Cl ₂	e : CH ₂ Cl ₂ /benzene/acetone		triazines 62 organochlorine organophosphates,	time demand : 2 hr/sample det : GLC (TID, ECD) sat : acid. Na ⁺ solution RRT-data for SE-30, QF-1 col.
Rueckstand (4c)	20 crops e : acetone p : CH ₂ Cl ₂	sweep co-distillation	0.002-0.005 organochlorine 0.05-0.1		
			organophosphates	time demand : 1 1/2 hr/sample	

Ref.	Sample material and extraction/Partition	Column-up column/eluate	Limits of detection (ppm)	Compounds	Remarks
Ambros (8-10)	6 main groups of foodstuffs e: acetone p: CH ₂ Cl ₂	1) e: active carbon/MgO/diatom. e: CH ₂ Cl ₂ 2) c: alumina N and B, e: 1 hexane 2 hexane/Et ether 3) c: siliga gel, e: 1 hexane 2 hex/benz, 3 benzene 4 spenz/BIOAc 5° EOAc	0.002 organochlorine 0.05 organophosphates 0.01 carbamates 0.02 triazines	143 organochlorine, det: GLC (NP, P-TID, PPD, ECD) organophosphates, sal: Na ₂ S ₂ O ₄ sol. TLC carbamates, repeated acetone extr. for fungicides, phthalimide compounds, urea herbicides elution patt. for clean-up c.	RRT-data for OV-22, OV-101, SE-30, SP2401/2250, NPCS-columns
Specht (11)	non fatty and fatty foods e: H ₂ O/acetone p: CH ₂ Cl ₂	1) polystyrene gel, e: EtOAc/ cyclohexane for polar and non polar compounds, extrat: xclean-up for organochlorine: 2) c: siliga gel, e: 1 toluene/hex, 2° tol, 3° acetone/tol, 4 acetone	90 organochlorine, organophosphates and polar metabolites, other insecticides fungicides	det: GLC (FPD, NPD, ECD, MS) sat: NaCl elution patterns for siliga gel column	
Sissons (6,7)	non fatty 21 crops e: acetone/hexane or H ₂ O p: hexane or chloro- form	for polar organophosphorus compounds: c: alumina N e: chloroform for hexane soluble compounds: C: alumina e: 1° hexane, 2° acetone/hexane 3° subsequent acetone/hexane	31 organochlorine, organophosphates and polar metabolites organophosphates 0.002-0.01 0.002-0.02	det: GLC (TID, ECD, colorim. total phosphorus, for non polar: acetone/hexane extraction, for polar compounds: H ₂ O-extr. RRT-data for OV-17 column, elution pattern for alumina column.	

الفصل الرابع والعشرون

- التقدير الأمثل ومقاييس التنقيص في طرق التحليل المتعدد الحساسية
للتبقيات المبيدات:

- المقدمة .
- اختيار ظروف الكروماتوجرافى الغازى .
- حمل اعمدة الكروماتوجرافى الغازى .
- حجم العمود .
- تحميل الاعمدة بالمستخلصات النباتية .
- مقدرة التحميل وكروماتوجرافى الطبقة الرقيقة .
- الاستنتاج .

التقدير الامثل ومقاييس التنقية في طرق التحليل المتعدد والحساسية لمقتببات المبيدات

Optimization of determination and clean-up parameters for sensitive multi-residue analysis pesticides

لتسهيل الاستخدام الصحيح لطرق التحليل المتعدد .. فقد تم دراسة سلوك عدة مبيدات باستخدام طرق التحليل الكروماتوجرافي الغازي ، كما تم تحديد حساسية هذه المركبات لظروف الكروماتوجرافي الغازي ، كما تم اختبار المقدرة على التحميل لكل من اعمدة الكروماتوجرافي الغازي والواح كروماتوجرافي الطبقة الرقيقة وذلك باستخدام مستخلصات التفاح والجزر والسبانخ وذلك بعد اجراء عمليات التنقية لها . كما تم توضيح ما تم استنتاجه فيما يتعلق باستخدام كل من طرق التنقية والكشف .

المقدمة :

لقد اتضح ان هناك مقدرة اختيارية عالية للكشاف ذو اللهب المضي Flame photometric (FPD) ، ومن النوع الحراري الايوني Thermionic (TID) ، والنوع ذو التوصيل الإلكتروني Electrolytic conductivity (HCD) بالإضافة الى الكشف لبعض طرق الكروماتوجرافي ذو الطبقة الرقيقة TLC وذلك في تقدير بعض متبقيات المبيدات الموجودة في المستخلصات بدون الحاجة الى اجراء عمليات تنقية . حيث ان الحقن المباشر للمستخلصات المركزة ينتج عنها السرعة في الوقت وبساطة التحليل ، فانها طريقة متبعة في عديد من المعامل . الا ان هذا التطبيق المباشر للمستخلصات الخام من الممكن ان ينشأ عنها تأثير معاكس ومضاد لجودة الفصل الكروماتوجرافي . بسبب تغيير تفاعل بعض المركبات الحساسة مع المموذ الكروماتوجرافي وبالتالي تغيير وقت الحبس النسبي . وهكذا فان عوامل الاستجابة النسبية (RRF) Relative Response Factors وأقل كميات يمكن كشفها (MDG) Minimum Detectable quantities من الممكن ان تختلف من وقت الى آخر وذلك اعتمادا على درجة التحميل وظروف اعمدة الكروماتوجرافي .

لكي يتم الوصول الى افضل استخدام لطرق التحليل المتعدد -Multi-Residue Proce- dures (MRP) فهناك عدة قياسات هامة .. منها ان ظروف الكشف يجب اختيارها بصورة مستمرة للتأكد من ان الحساسية للكشف كافية للتعرف على المركبات المتغيرة . لذلك فانه تم دراسة سلوك عديد من المبيدات تم اختيارها من مجاميع كيميائية مختلفة وذلك باستخدام اعمدة مبيأة تم تحميلها بمستخلصات نباتية وذلك بهدف :

- ١ - تعريف المركبات المتغيرة ، والتي تتطلب اهتمام خاص خصوصا عندما تكون ظروف التحليل المتعدد تستخدم للعينات الغير معروفة المنشأ .
- ٢ - تقدير مقدرة التحميل لأعمدة الكروماتوجرافي الغازي القصيرة وذات السعة المنخفضة .

في حالة عينات التفاح والجزر والسبانخ فان الاستخلاص قد يتم بالاسيتون وتمت عملية التوزيع باستخدام الميثيلين كلوريد مع اجراء التنقية على خليط منشط من (١١ جم كربون منشط + ٢ جم مغنسيوم + ٤ جم طحالب ارضية) . ايضا تمت دراسة تأثير المستخلصات السابقة على طريقة التحليل الكروماتوجرافي الطبقة الرقيقة وذلك باستخدام هذه المستخلصات وتطبيقها على الواح جاهزة .

اختيار ظروف الكروماتوجرافي الغازي Selection of GC conditions

* خمول اعمدة الكروماتوجرافي الغازي Inertness of GC columns

ان الجزيئات المتغيرة كيميائيا من الممكن ان تتدهور في جزء الحقن وايضا في عمود الكروماتوجرافي وفي كلا الحالتين فالتأثيرات التحضيرية من كل من جزء الحقن والعمود ودرجة الحرارة تتحكم في معدل هذا التدهور . يتم ذلك باتباع الغسيل بحامض واستخدام اعمدة زجاجية من النوع Pyrex المعامل بمادة Silane مع استخدام مادة تعبئة خاملة وصوف زجاجي معاملة بالسيليل وبالتالي فان تكسير معظم المركبات المتغيرة من الممكن ازلتها او حفظها عند مستوى ثابت ومنخفض . بالتالي فان اعادة الحقن للمستخلصات النباتية المركزة او حقن كميات كبيرة من المركبات المتغيرة كيميائيا بحيث تجرى بعدها اجراء عملية سيللة للعمود فان ذلك يعمل على تحسين صفة الخمولية للنظام الكروماتوجرافي وعلى العكس فان تلوث جزء الحقن من الممكن ان يعمل على احداث تدهور جزئي او كامل لهذه المركبات المتغيرة .

عند اجراء مقارنة بين الاستجابات للمبيدات المختارة وهي : P - P' - DDT , Propicana - zole , Monocrotophos , Carbaryl وذلك تحت ظروف مختلفة للأعمدة . فقد وجد انه من الممكن الكشف عن هذه المبيدات حتى مستويات 10 ng و 10 pg وذلك مع انظمة الكشف من النوع ECd , NPTID , FPD على التوالي .

الظروف المستخدمة للفصل الكروماتوجرافي والتي اظهرت هذه الاستجابة كانت مناسبة لتقدير متبقيات اخرى والتي تم استرجاعها بواسطة طرق MRPS الاكثر شيوعا في الاستخدام .

فيما بين المبيدات الفوسفورية العضوية التي تم تحليلها فان معظم المركبات الغير ثابتة كانت مركبات قطبية وخاصة انها تحتوي على سلسلة جانبية تشمل :

أ - رابطة زوجية Monocrotophos ب - شق اميد Phospholan

ج - شق كرباماتي Dimethoate د - مجموعة استر Malathion

هـ - او اى تركيب يسمح بتكوين رابطة ألدوجينية

ذلك بالإضافة الى الاهتمام الخاص عند اجراء تحليل لمركبات الكاربامات مثل Carbofu-

ran , Carbaryl , وايضا مجموعة اليوراسيل Terbacil ومركبات اخرى تشمل الأندرين وال د د Thiobendazol dicofol .

* حجم العمود Column size :

عمود قصير (٥٠ - ٩٠ سم) وضيق قطر داخلي (١,٧٥ - ٢ مم) معبأ بمواد مفيدة جدا لاجراء عملية الغزلة والتأكد من وجود متبقيات المبيدات وذلك بالمقارنة مع الاعمدة التقليدية ذات طول ١٨ سم وقطر داخلي ٣ مم ، وقد تبين ان الأعمدة القصيرة ينتج عنها تحليل اسرع بمعدل ٢ الى ٥ مرات تغطي اقل قدرات للكشف MDQS اكثر بمقدار ٥ إلى ١٠ مرات كما انها تحتاج الى درجة حرارة اقل .



شكل (١) : كروماتوجرام المونوكروثوفوس (A) والباراثيون (B) بعد تحميل العمود من اليسار لليمين صفر ، ٢٠٠ ، ٣٠٠ مللجم مستخلصات السبانخ

تحميل الاعمدة بالمستخلصات النباتية Loading columns with plant extracts :

في الاعمدة القصيرة (٤٥ سم × ٣ مم) فقد تم تعبئتها بمادة OV-101 chromosorb WAW ٣ % ذات حجم حبيبات 60-80 mesh ، قد تم معاملة هذه الاعمدة بمادة Carbow ax 20 M وبعد ذلك تم تحميل هذه الاعمدة باعادة عملية الحقن للمستخلصات المركزة بما يعادل ٥٠ - ١٠٠ ملجم من التفاح والجزر والسبانخ وتم استخدام الكشف من نوع اللهب المضيئ (FPD) وكانت درجة الحرارة المستخدمة كالآتي, 140°C/2 min program at 10 °C min. لم تلاحظ وجود تغيرات في قيم عوامل الاستجابة النسبية - Relative Re- 220 °C/10 min. sponse Factor (RRF) او في قيم الحبس النسبي او في مقدرة التحليل . وذلك عندما وصل اقصى تحميل الى 2000 mg . بينما عند تطبيق درجة حرارة ١٨٠ °م فان كل من قيمة RRF لمبيد monocrotophos (A) أو لمركب parathion-methyl (B) كذلك فان مقدرة التحليل قد انخفضت بصورة مستمرة مع زيادة التحميل .. وذلك كما هو مبين شكل (١) .

لقد تبين حدوث تدهور وتلف لعمود الكروماتوجرافي بسبب اجراء التحميل عليه بحقن 200 mg مستخلص سبانخ وحقن 140 mg مستخلص تفاح ، 600 mg مستخلص جزر . بينما عند تحميل الاعمدة بالمستخلصات بعد تنقيتها على مخلوط الادمصاص فان اداء العمود لم يتغير واصبح جيدا عندما وصلت درجة التحميل الكلية الى 3000 mg .

تدل هذه النتائج على ان المقدرة على التحميل تعتمد على نوع المستخلص ودرجة حرارة العمود وتتأثر باقل الحدود بسعة العمود . لقد وجد ان المقدرة التحميلية للاعمدة من الممكن تقديرها سريعا وذلك بفحص قيم RRF وذلك بعد اعادة الحقن للمستخلصات التي تحتوى على مدى من ١٥٠ الى ٢٠٠ مللجم / عينة والتي تحتوى على زوج مناسب من المركبات المختبرة مثل Monocrotophos/parathion-methyl أو Carbaryl/prophan ويتم الاستمرار فى الحقن حتى تصل قيم RRF للمركبات الثابت / المتغير الى ٧.٨٠ من القيمة الاصلية والتي تحدد بانها اقصى حمل اجمالى (LM) maximum total load .

من الممكن اجراء حقن مرة واحدة لعينة تمثل 0.03 LM على اساس ان يتم وضع صوف زجاجي معامل بالسيولة وبعداد نهيشة العمود على اقصى درجة حرارة مضاف اليها ٣٠° م لمدة ٨ ساعات بعد كل ٢٠ حقنة . عند تقدير اقصى تحميل متاح من المهم ايضا اختيار الكشاف ، ففى حالة استخدام الكشاف من النوع ECD لابد من اجراء تنقية لكل مستخلص وايضا عند استخدام الكشاف من النوع NPTID .

اما عند استخدام الكشاف من النوع TID عادة يسمع بحقن مستخلصات نباتية بها ٢ - ١٠ مللجم ، بينما فى حالة استخدام FPD , HCD فان مقدرة الاعمدة على التحميل تكون محدودة . لكى نضمن افضل اداء لنظام الكروماتوجرافي الغازى يجب ان يكون تحميل العمود باقل قدر من العينة المراد تقديرها وذلك يكون فى حدود (ملجم/كجم) .

مقدرة التحميل وكروماتوجرافي الطبقة الرقيقة TLC and Loadability :

لقد تم اختبار مقدرة التحميل للسليكا جيل واكسيد الالومنيوم لالواح TLC وذلك باستخدام مستخلصات نباتية مختلفة وانظمة ازالة مختلفة وكذلك مبيدات مختلفة فعندما تم استخدام مستخلصات مشتركة نتج عن ذلك حدوث انتشار وظهور بقع ذات ذبول وتأثرت طبيعة توزيع المبيدات على الالواح . مع ملاحظة البطء فى السرعة بالاضافة الى انخفاض مستويات الكشف لهذه المبيدات .

وهكذا فان مقدرة التحميل للطبقة تختلف باختلاف قوة المذيب المكون للطور المتحرك وحس المبيدات وايضا تعتمد على طريقة الكشف . فى جدول (١) يتبين ان اقل تحميل ينتج عنه فصل وكشف وذلك عندما تم اتباع طرق الكشف التالية :

جدول (١) : التغير في حدود التقدير (مللجم/كجم) لبعض المبيدات اعتمادا على ظروف الفصل على الألواح

Compound	Eluent	Rf	MDQ /ug	Carrot			Spinach		
				Purified extr.	Crude extr.		Purified extr.	Crude extr.	
				sample LD mg	Sample LD mg		Sample LD mg	Sample LD	
Carbaryl	EtAc	0.58		500	0.2	100	1	1000	0.1
	PE=E=1=2	0.23	0.05	2000	0.05	250	0.4	1000	0.5
	CH ₂ Cl ₂	0.11		500	0.1	200	0.4	1000	0.05
Dioxacarb	EtAc	0.41		500	0.4	100	2	1000	0.1
	PE=E=1=2	0.06	0.01	2000	0.05	250	0.8	1000	0.1
	CH ₂ Cl ₂	0.		500	0.4	200	1	1000	0.2
Atrazine	EtAc	0.59		250	0.2	100	0.5	1000	0.1
	PE=E=1=2	0.27	0.05	500	0.2	200	0.5	2000	0.05
	CH ₂ Cl ₂	0		400	0.25	100	1	1000	0.1
Carbendazim	EtAc	0.22		500	0.2	500	0.2	2000	0.4
	PE=E=1=2	0.02	0.01	400	0.2	100	0.8	2000	0.2
	CH ₂ Cl ₂	0		500	0.2	50	1.6	1000	0.30

قد لوحظ ان حدود التقدير كانت في مستويات منخفضة الى ان وصلت الى ٥ ر إلى ١ مللجم /كجم والتي نادرا ما تم الكشف عنها . وعندما تم تطبيق المستخلصات النباتية مباشرة على الالواح TLC وحتى اذا استخدمت طرق التقييم الحيوى (باستخدام الانزيمات او جراثيم الفطريات) للكشف عن المتبقيات ومن خلال التجارب فقد تبين ان طرق الكشف بالتقييم الحيوى قد تكون متخصصة لنوع معين من المبيدات ولكنها طرق غير حساسة في حالة وجود كميات كبيرة من المستخلصات المشتركة . قد وجد ان اجراء عملية التنقية للمستخلصات الخام على خليط الادمصاص تعمل على خفض قيمة LD (حدود التقدير) ٣ أو ٥ اضعاف . واذا كانت حدود التقدير اقل من ١ ر مللجم/كجم فان ذلك يتطلب استخدام طريقة تنقية فعالة .

الاستنتاج Conclusion :

ان الثبات الحرارى للمبيدات لظروف التحليل الكروماتوجرافى تختلف بدرجة كبيرة وتؤثر بنوع العينة المستخلصة . ولضمان ان حساسية الكشف للمبيدات المسترجعة بواسطة طريقة المتبقيات المتعددة (MRPS) قد تم الوصول اليها فان ظروف الكروماتوجرافى الغازى يجب ان يتم الابقاء

عليها ويتم فحصها بصورة دورية اثناء تحليل العينات بحيث يتم اختبار قياسات التقدير باستخدام مخاليط تحتوي على كل من مركبات ثابتة ومتغيرة .

وهكذا نجد ان لكل من نوع العينة المستخلصة وظروف عمل الكروماتوجرافى وطريقة الكشف كلها عوامل تؤثر على تحميل الاعمدة والواح TLC . من الممكن اجراء الحقن المباشر للمستخلصات المركزة اذا ما تم استخدام الكاشفات من النوع TID أو EPD أو HCD مع اجهزة الكروماتوجرافى الغازى . اما اذا تم الكشف باستخدام (TLC) كروماتوجرافى الطبقة الرقيقة للتحليل المتعدد فلا بد من اجراء تنقية للمستخلصات .

الفصل الخامس والعشرون

العوامل الرئيسية التي تؤثر على صلاحية وكفاءة طرق تحليل المخلفات المتعددة .

- مقدمة .
- مصادر الاختلافات والسيب الموصى بها لتقليل تواجدها واثرها .
- (أ) العمليات التي لا تعتمد على طريقة التحليل .
 - * تجهيز العينات للتحليل .
 - * تخزين العينة قبل التحليل .
 - * الشوائب التي تتداخل مع التحليل ومصدرها المذيبات والجواهر الكاشفة وادوات المعمل .
 - * المحاليل القياسية .
- العمليات المرتبطة بالطريقة .
 - * الاستخلاص والفصل الجزئى بين سائلين .
 - * الترشيح والتجفيف والتبخير .
 - * عمود الكروماتوجرافى والالواح الرقيقة .
- الكروماتوجرافى الغازى السائل .
- المشاكل المتعلقة بملاءمة الطرق .
- خصائص العمليات الفردية لتحليل المخلفات .
- وصف الطريقة .
- الاستنتاج .

العوامل الرئيسية التي تؤثر علي صلاحية وكفاءة طرق تحليل المخلفات المتعددة

Main Factors Influencing Reproducibility of Multi-residue methods*

مقدمة Introduction :

الفرض من استخدام طرق تقدير المخلفات المتعددة (MRM's) يتمثل في الحصول على معلومات أكثر عن العينة خلال فترة قصيرة وبعدد من التحليلات أقل وكذلك تقليل تكلفة تحليل كل عينة . من الأهمية الأحاطة بظروف الاستخدام المناسب لهذه الطرق الا وهي توفير المعلومات الكافية لدى القائم بالتحليل عن طبيعة العينة وملائمة الطريقة المقترحة وكذلك نوعية المبيدات المحتمل تواجدها داخل او على عينة المحصول مجال التحليل . بالإضافة لذلك فان المعلومات والمعرفة الخاصة بالمعايير المميزة للعمليات المختلفة والظروف المثلى لكل عملية مطلوبة لتقليل او تفادي التأثيرات الجانبية الغير مرغوبة . يجب ان تختير العمليات مع المركبات الأكثر حساسية للظروف المثلى . من الضروري ضمان مصدر الأجهزة والمواد الداخلة في عمليات التحليل ومن ثم يجب التأكد من نقاوة وملاءمة المواد التي تستخدم في كل مجموعة batch . المركبات الجديدة تختبر بانتظام مع طرق تقدير المخلفات المتعددة MRM المستخدمة بهدف تقدير صلاحية الطريقة وإمكانيات التداخلات والمواد المتداخلة . في هذا المقام تتناول صلاحية وكفاءة طريقة التحليل من منطلق الاختلافات والتحويلات . الفرض يتمثل في تعريف المصادر الرئيسية للاختلافات عند التطبيق المرتبطة بالعمليات كل على حدة أو مجتمعة واقتراح الوسائل والمعايير الضرورية اللازمة للاستخدام الأمثل لطرق التحليل . على سبيل المثال تعتبر طريقة اخذ العينات والنقل ذات أهمية قصوى في تحديد اسباب الاختلافات في نتائج التحليل .

مصادر الاختلافات والسبل الموصى بها لتقليل تواجدها وأثرها .

(أ) العمليات التي لا تعتمد على طريقة التحليل

Processes independent of the methods

* تجهيز العينات للتحليل Preparation of samples for analysis :

من المعروف ان المخلفات لا تتوزع بتجانس في او على المحاصيل ومن ثم تختلف النتائج مع عامل الوقت ومن معمل لآخر اذا ما تبعت وسائل او اقترابات مختلفة . من الضروري اتباع طرق متجانسة ومتماثلة اذا ما اريد الحصول على نتائج مقارنة . وللتمشي مع او تحقيق القواعد الدولية بخصوص بيانات المخلفات ينصح بل يجب استخدام الطريقة الموصى بها من قبل لجنة الدستور فيما يتعلق بمخلفات المبيدات وفيها يوصف وبكل دقة أية اختلافات في مجال التحليل . تجدر العناية الفائقة للتأكد من التجانس التام لجميع اجزاء عينة المعمل المعدة للتحليل وقبل ان تؤخذ عينة التحليل النهائي .

* تخزين العينة قبل التحليل : Storage of sample before analysis :

تتحلل أو تنهار مختلف ميبدات الآفات بصورة تدريجية حتى على درجة حرارة - ٢٠ °م وتتوقف درجة الانهيار على العينة نفسها ، وفي العادة يكون الانهيار سريعا في العينات المفتنة والمهروسة نتيجة للنشاط الانزيمى العالى وملازمة السائل الخلوى المحتوى على درجات مختلفة من الحموضة بالمقارنة بالثمار الكلية . من اهم المعايير المتعلقة باختلاف محتوى الخلفات هو الوقت المطلوب لتجميد العينات ، لقد اثبتت الدراسات انه كلما كان معدل التبريد سريعا كلما كان الانهيار بسيطا . فى هذا الخصوص يعتبر التبريد فى الثلج الجاف او فى التبريد السائل من احسن الطرق . من المحتمل تقليل الخطأ التقليدى والاختلاف فى النتائج عن طريق تحليل العينات المحلية المعاملة الطازجة وعيناتها المثلثة بعد فترات مختلفة من التخزين .

* الشوائب التى تتداخل مع التحليل ومصدرها المذيبات والجواهر الكشافة وادوات المعمل

Interfering impurities from solvents, reagents and laboratory devices

تظهر الشوائب على صورة علامات او اشارات متداخلة على الكروماتوجرام خاصة فى حالة الكروماتوجرافى الغازى بكشاف صائد الالكترونات GC/BCD او مع الجوهر الكشاف تترات الفضة على الواح الكروماتوجرافى الرقيق TLC . بالاضافة الى التأثيرات المعلومة عن دور آثار او بقايا المعادن فى بعض المركبات ومن ثم تتوقع امكانية حدوث درجات معينة من الانهيار كنتيجة لوجود هذه الشوائب . من المؤكد انه عند استخدام طريقة تقدير الخلفات المتعددة MRM's لا يوجد مجال لاي تهاون ولو ضئيل فيما يتعلق بنقاوة المذيبات والجواهر الكشافة حيث ان العديد من المركبات قد تخلل باكثر من طريقة . المتطلبات الخاصة بنقاوة ونوع المواد المستخدمة فى الطريقة تعتمد على طريقة الكشف وثبات المركب مجال التحليل . من الناحية العملية يعنى ذلك ان عينة المقارنة الخاصة بالجواهر الكشافة Blank اذا وضع مع العينة لا يحدث ارتفاع فى قمم التداخل مع GC/ECD فى الفترات التى تحدث فيها ازالة للمركبات الاولى والاخيرة محل التحليل .

* المحاليل القياسية Standard solutions :

نوعية المادة القياسية يمكن التأكد منها بالمقارنة بالمركب القياسى ذو النقاوة المضمونة والمؤكدة او من خلال برنامج معايرة فى المعمل . من اهم العوامل الرئيسية التى تؤثر على دقة المحاليل القياسية نوعية المذيب والتغير فى الحجم نتيجة للتبخير والثبات ودقة الادوات الزجاجية (المصاصات والدوارق) المستخدمة فى تجهيز المحاليل . الانحراف المحتمل فى المحاليل القياسية يجب ان يكون فى حدود $\pm 1\%$ فى التخفيف النهائى . الصفات الاساسية المحددة لاختيار المذيبات تتمثل فى نقطة الغليان العالية والقطوبة المتوسطة والثبات والنقاوة . العوامل التى تؤثر على ثبات المحاليل القياسية تنحصر فى التعرض للأشعة فوق البنفسجية والرطوبة والحرارة ونقاوة ونوع المذيب . بعض المركبات مثل البنزوميل والبيوتيلات والمبيدات والفنميد يقام الغفرات والثيوميتون تنهار بسرعة حتى فى

حدود تركيزات مللجم/سم³ في المحاليل المجهزة باحسن نوعية مذيب . بناء على ذلك يجب عمل محاليل قياسية طازجة بصورة منتظمة . تبخير المذيب يمكن الحد من حدوده بقدر الامكان باستخدام محاليل عمل من ٨ - ١٠ سم³ في دوارق محكمة الغلق للمعايرة . وهذا المحلول يجب التخلص منه يوميا او عندما ينقص حجمه لأكثر من ٢ سم³ .

العمليات المرتبطة بالطريقة Method dependent processes

* الاستخلاص والفصل الجزئي بين سائلين

Extraction and liquid/liquid partition

من الواضح ان نوع المذيب والخلوط المستخدم في الإستخلاص بالمذيب يؤثران على كفاءة الاستخلاص . يمكن تقليل الاختلافات الناجمة عن مختلف الاجهزة والأدوات برج مخلوط العينة والمذيب لمدة ساعة بعد الطحن (الخلط) . في هذه الحالة يجب اعتبار ثبات المبيدات للتحلل المائي . يجب عدم تغيير نوع وكمية المذيب دون التاكيد من كفاءة الاستخلاص اذا كان الهدف الحصول على نتائج مقارنة . من الثابت ان الاسترجاع من العينات المقواة لا تعطى نفس درجة كفاءة الاستخلاص للعينات الحقلية . الاختلافات بعضها يرجع الى الفصل الغير مناسب للأوساط السائلة خاصة في حالة المستخلصات التي قد تتكون . وليكن معلوما ان وقت الاستقرار في الاوساط السائلة او في المستخلصات المبللة يجب الا تزيد عن الوقت المطلوب للفصل الكامل .

* الترشيع والتجفيف والتبخير Filtration, drying and evaporation

لتقليل درجة ادمصاص مخلفات المبيدات تستخدم مواد مساعدة للترشيح وكبريتات الصوديوم بكميات اقل ما يمكن بما يحقق الغرض فقط . يجب ان تغسل اوراق الترشيح او المواد الصلبة بالكمية المناسبة من المذيب . من الضروري تجنب تبخير المبيدات لحد الجفاف عند استخدام طريقة تحليل المخلفات المتعددة MRM's . درجة حرارة حمام التسخين يجب الا تزيد الا بدرجات حرارة قليلة عن نقطة غليان المذيب على الضغط المستخدم . أية رواسب من المادة المتبقية يجب ان تغسل عدة مرات بالمذيب بداية من جدار النورق . ان اضافة المذيبات عالية الغليان قد تقلل من فقد المخلفات خلال التبخير ولكن الكمية يجب ان تكون اقل من الحجم النهائي المطلوب كما ان القطبية المختلفة يجب الا تؤثر عكسيا على نظام السيولة في عمود الكروماتوجرافى .

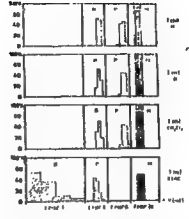
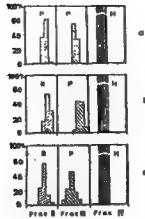
عمود الكروماتوجرافى والالواح الرقيقة

Column chromatography (CC) and TLC

عمليات الادمصاص الكروماتوجرافى ونظام الازاحة تتأثران كليهما بالعديد من العوامل والمعايير التالية تبدو ذات اهمية فى تحديد كفاءة وصلاحية العمود والالواح CC و TLC :
النوع والكمية والنوعية مثال ذلك حجم الجسيمات وتجانسها والنشاط والكفاءة الخطية للمادة الادمصاص وقوة المذيب . بالاضافة لذلك تمثل عوامل الحرارة ونوع المركب مجال التحليل وطبيعة

وكمية المستخلصات المرافقة والرطوبة النسبية للهواء والتغير في نشاط مادة الادمصاص بمذيب الازاحة اهمية في هذا الخصوص . الفصل بعمود الكروماتوجرافى يتأثر بوجه خاص بحجم وتكوين العمود وطريقة التعبئة خاصة وقت التعبئة والمذيب المستخدم وتجانس الحبيبات وطبيعة المذيب المستخدم لازابة المواد المستخلصة ومعدل الازاحة والتداخل بين مادة الادمصاص والمبيدات . الازاحة الخاصة بـ كروماتوجرافى الالواح TLC تتأثر بنشاط اللوح بعد وضع المبيد خاصة اثر وقت الوضع والرطوبة النسبية واسلوب تشييع كابينه الفصل واختلاف الضغط البخارى فى مكونات السائل المزاج وطريقة وضع او معاملة اللوح مثال ذلك حجم البقعة والمذيب وقيم انسياب او سريان المركبات RF . عادة ما يكون وقت وضع العينات على اللوح كافيا لحدوث التوازن بين مادة الادمصاص والرطوبة فى الجو ومن ثم يجب ضبط كفاءة اللوح بعد المعاملة "Spotting" . بعض هذه التأثيرات وضحت مع امثلة عملية . فى الشكل (١) يتضح نظام الازاحة للمركبات الفوسفورية العضوية على الأعمدة : (أ) ٥ جم Merk Kieselgel ر-٥ - ٢ مليلتر ، (ب) سليكا Voelm ٢-١ مليلتر ، (ج) Merk kieselgel (٢-٥ مليلتر) والتي فقد نشاطها باستخدام ٧٥ ٪ ماء ثم الازاحة مع ٤٠ مليلتر هكسان (المكون ١) ثم ١٦ مليلتر هكسان / بنزين ٤ : ٦ (المكون ٢) ، ١٦ مليلتر بنزين (المكون ٣) ثم ٢٠ مليلتر بنزيل / ايثايل استيات ١ : ١ (المكون ٤) . لقد كانت معدلات الازاحة ٢ ، ١ ، ٢ ، ٣ سم / دقيقة على الأعمدة أ ، ب ، جـ على التوالى . ان الاختيار الصحيح للمذيب فى غاية الاهمية . المذيب القطبى الذى يستخدم لنقل العينة الى العمود قد يسبب فقد نشاط مادة الادمصاص نتيجة لاحتلاله للمواقع النشطة ، وهذا الوضع موضح فى الشكل (٢) حيث استخدمت مذيبات الهكسان (H) والبنزين (Be) والميثيلين كلوريد (CH₂ Cl₂) والايثايل استيات (Et Ac) . وكان حجم المذيب المضاف كافيا لتكوين طبقة جزيئات واحدة على ٧٦ ٪ من سطح مادة الادمصاص . لقد غير الايثايل استيات من نظام لـ ازاحة مبيدات البروموفوس (B) والميثايل برائيون f(P) بينما لم يحدث تغيير فى حالة الملائيون الاكثر قطبية (M) والذي ازيع فى النهاية . المذيبات الضعيفة مثل الهكسان والبنزين والميثيلين كلوريد لا تحدث اية تغييرات فى نظام الازاحة . مواد الإدمصاص الثانية والثالثة والرابعة والخامسة قد يعاد تنشيطها خلال الازاحة بالمذيب نظرا للتخلص وإزالة بعض الماء الغير نشط من العمود . ومن ثم فان سريان مذيبات البنزين الجاف او الدائى ايثيل اثير خلال العمود الذى يحتوى على ٣٠ جم الرميلا Voelm ذات النشاط الخامس (V) سيؤدى الى تغيير نشاط الالومينا الى (II) . لمنع هذه المشكلة يجب ضبط محتوى المذيب من الماء باضافة مادة ادمصاص عالية النشاط (V) فى اثير البترول والهكسان او باضافة الماء الى المذيبات العضوية الاخرى . المستخلصات المرافقة خاصة الدهون والزيوت قد تؤثر بدرجة كبيرة على ازاحة المبيدات ولكن هناك عينات اخرى تؤثر على نظام الازاحة كما فى الشكل (٣) .

لقد درست الاختلافات فى معامل الانسياب RF بعد وضع الالواح فى كابينه تحتوى على هواء به نسبة ثابتة من الرطوبة . توضح النتائج الموجودة فى الشكل (٤) ان تأثير الرطوبة على قيم RF يعتمد كذلك على نوع السائل المستخدم فى الازاحة بالرغم من عدم حدوث تغير فى درجة

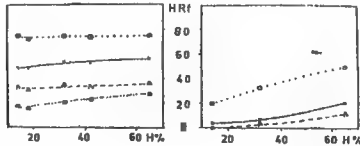


شكل (١) : نظام الإزاحة لمبيدات
البروموفوس (B) والميثايل برائيون (P)
والمالايون (M) على أنواع مختلفة من
السليكاچيل

شكل (٢) : تأثير المذيبات على حجم
الإزاحة - ظروف العمود كما في
الشكل ١ (b)



شكل (٣) : تأثير مستخلصات التفاح على إزاحة البروموفوس (B) والميثايل برائيون (P)
والمالايون (M) - ظروف العمود كما في شكل ١ (b)



شكل (٤) : تأثير الرطوبة النسبية على معدلات إنسياب مركبات Aziprotryn (O) Secbymeton (□) Cyanazine (Δ) atrazine (X) DC Fertig & Latten
التيرولين ايثير + الداى إيثيل إيثير (١ + ٢) والميثيلين بروميد (b)

الازاحة لاكثر من ١٢٠ مركب . من الثابت ان درجة تشبع الكاينيتة تؤثر بدرجة كبيرة على قيم HRF والتي تنقص كلما زاد التشبع (جدول ١) .

جدول (١) : تأثير تشبع الكاينيتة على قيم معامل الانسياب . HRF

نوع الاالواح وطبيعة الكاينيتة											
(B)						(A)					
S	CS	NS	S	CS	NS	S	CS	NS	S	CS	NS
CV% HRF	CV% HRF	CV% HRF	CV% HRF	CV% HRF	CV% HRF	CV% HRF	CV% HRF	CV% HRF	CV% HRF	CV% HRF	CV% HRF
٤٢	١٩	٢٣	٢٢	٢٣	٢٧	٥٠	١٤	٣١	١٨	٢٩	٢٢
٢٩	٣١	١٧	٣٢	١٧	٣٩	٣٦	٢٢	٢٠	٢٣	١٧	٣١
٢١	٣٨	١٢	٤٣	١٢	٥٢	٣١	٣٠	١٢	٣٢	١١	٤١
١٣	٤٦	٩	٥١	٩	٦١	٢٤	٣٧	٨	٣٨	٧	٤٩

A = Dc Fertigplatten Kieselget-60

B = Selfmade kieselgel 60 0.3 mm activated at 110 °C for 1 hour.

NS = كاينيتة بدون ورق ترشيح S = كاينيتة السندوتش المذيب = الميثيلين كلوريد

CS = كاينيتة بورق ترشيح

الكروماتوجرافي الغازي السائل Gas liquid chromatography :

بادئ ذي بدء يتأثر ثبات المركبات على الكروماتوجرافي بالمادة الوسيطة ومواد التعبئة ودرجة الحرارة ونوع المذيب . يتزايد تأثير النشاط السطحي بتناقص الكمية المحقونة . تحت الظروف السريعة فان الكمية الكلية للمادة المحقونة قد تحلل وتنهار مما يعرف الكمية الصغرى الممكن الكشف عنها Minimum detectable Quantity (MDQ) أو الاعتماد على حساسية الكاشف . ومن ثم يجب ان يقاس المعيار MDQ مع عدم تمثيلها من المنحنى القياسى . لتقليل تأثير الشوائب المعدنية ومجاميع السيلانول السطحية تستخدم اكثر المواد خمولا والمغسولة بالحامض من الداي ميثيل داي كلوروسيلان او الكربوكس المعالج للتعمية والمغلق مع الاوساط الثابتة ٣ ٧ فى تقدير المخلفات المتعددة MRM's . الاعمدة الزجاجية لوحدها غير كافية الخمول (عدم النشاط) لذا يصبح من الضروري معاملتها بنفس الطريقة التى اجريت مع التعبئة . ولقد ثبت اهمية تأثير المواد المحقونة ومن الاهمية استخدام الكوارتز او البيركس المعامل بالسيلان . الصفوف الزجاجية عند نهايات العمود مهم ايضا نظرا للكبر النسيى للسطح . من الملائم استخدام الصفوف مع البيركس والسيلان وكذلك يوضع الصفوف مع الكوارتز على قمة العمود حيث انه اكثر خمولا من الاول . ان خمول العمود يتفاوت تبعا للمواد المحقونة الملونة ونوعية الغاز الخامل . لذلك فان الاختيارات المنتظمة التى يستخدم فيها مخلوط من الكاربازيل والبروفام هى للتأكد من سلامة العمود والجهاز . فلو ان نسبة استجابة الكاربازيل / بروفام متساوية او اكبر من ٥٠ على مستوى ٥ نانوجرام يعنى ذلك ان خمول النظام مناسباً لتحليل المبيدات المتحركة .

يجب ان تكون المحاليل القياسية ومحاليل العينات المستخدمة جافة لا تحتوى على اى من

الشوائب الغير متطايرة والتي يجب ان تكون خاملة كذلك لتقليل حدوث الانهيار او التحول في مادة التعبئة . من المحتمل ان يكون التسرب من اماكن الدخول والتلوث عند بداية العمود وطرق الحقن الغير مناسبة من مصادر التغيرات الغير متحكم فيها . الحل البسيط لهذه المشكلة يتمثل في تغيير مكان الدخول Spetum والاستيتمترات القليلة الاولى من مادة التعبئة بانتظام وهناك وسائل اخرى تحتاج لبحرث كبيره . من اكثر المعايير شيوعاً لتعريف المركبات القيم الخاصة بالارتباط النسبي Relative retention . البيانات الخاصة بهذا المعيار يمكن تحقيقها فقط لو ان حرارة العمود متساوية عند المقارنات المختلفة . العلاقة الموجبة بين درجة الحرارة ووقت الارتباط النسبي يساعد على اتخاذ بعض المركبات المختارة مثل الميثايل برائيون والمالاثيون والديلدرين والبارا - بارا - د د ت واستخدامها لمعايرة الحرارة الظاهرية للعمود في مختلف الاجهزة . يجب ان توجه عناية خاصة لتأثير حرارة الحقن Injector اذا كان هناك جزء من مادة التعبئة في مقل الحقن . لقد سجلت اوقات الارتباط النسبية RT لعدد كبير من مختلف المبيدات على درجات حرارة متفاوتة في كتاب الـ EPA . وقد يختلف عامل الاستجابة للمركبات ونفس الشيء بالنسبة للاختيارية من وقت لآخر حتى مع نفس الكاشف . على القائم بعملية التحليل الاحاطه بالقدرات الحقيقية للكاشف والتي يمكن الحصول عليها ومعرفة بها الحقن المنتظم مخلوط اختيار مناسب وقياسي .

المشاكل المتعلقة بملاءمة الطرق Problems with the adaptation of the methods

* خصائص العمليات الفردية لتحليل المخلفات : Characterization

ادى الازدياد الكبير في ضرورة التحكم في استخدام المبيدات على المستوى العالمى الى الحاجة الملحة والضرورية لاجراء عدد كبير جدا من التحليلات بصورة منتظمة بل روتينية . اصبح من المؤلف تقدير مستوى مخلفات المبيد في نفس العينة في معامل مختلفة . وهذه المستويات توضح ان نتائج التحليل الخاصة بها متماثلة وفي حدود مدى مقبول ومتفق عليه . يمكن تقسيم عمليات تحليل المخلفات في ثلاثة مجموعات رئيسية مختلفة تبعا للتغيرات المتوقعة حدوثها في الطريقة المتبعة للتحليل دون التأثير على النتائج .. يمكن التنويه لهذه المجموع فيما يلي :

* المجموعة الاولى : العمليات الاجبارية Obligatory operations

يعتمد اسلوب وطريقة اخذ العينات وتقسيمها وفصلها الى اجزاء جاهزة للتحليل على بعض العوامل وأى انحراف عن الطريقة الموصوفة المقبولة ستغير من النتائج وتجعلها غير قابلة للمقارنة . لا يمكن التحكم السهل في كفاءة الاستخلاص خلال التحليل . من المعلوم ان الاسترجاع من العينات الملوثة يشير فقط للفقء خلال التحليل . من الضروري عند تطوير طريقة جديدة او حتى عند استخدام الطريقة المنشورة لتقدير مركب جديد تحديد كفاءة الاستخلاص ومن ثم يجب وصف النتائج بدقة وسبل الحصول عليها .

* المجموعة الثانية : العمليات المتحكم فيها Controllable operations :

يمكن التحكم فى كفاءة وصلاحيه عمليات التحليل (تخزين العينة - الترشيع - التبخير - الفصل الكروماتوجرافى) عن طريق دراسات الاسترجاع العادية او اية وسائل اخرى . يمكن تغيير نوعية المواد والجواهر الكشفية فى الطريقة الاصلية بعد اختيار البدائل المناسبة والتأكد من الحصول على نفس النتائج النهائية .

* المجموعة الثالثة : عمليات تتطلب ظروفًا خاصة

Operations requiring individual optimisation

تحتاج الاجهزة المختلفة ظروف مختلفة لتحقيق الكفاءة المناسبة . وعلى سبيل المثال لا بد من الاختلاف التام فى معدلات انسياب الايدروجين والنيتروجين والهواء وكذلك الحرارة لتحقيق نفس حدود التقدير والكشف والاختيارية فى الكاشفات الحرارية الايونية thermionic detectors . ومن ثم تكون هناك حاجة ضرورية لجعل كل جهاز فى الظروف المناسبة التى تلائم طريقة التحليل وليس مجرد الإكتفاء باتباع الظروف الموصوفة فى الطريقة بدقة متناهية .

* وصف الطريقة Description of the method :

يجب ان تمكن وصف الطريقة من تطبيقها وتطويرها وتحويرها وكذلك الاستخدام الامثل وتمثيل النتائج . من المؤسف ان التفاصيل المتاحة فى جميع النشرات تكون غير كافية لتحقيق هذه الاهداف . بالإضافة الى البيانات العادية فان هناك حاجة الى معلومات خاصة لمقابلة المتطلبات المذكورة أعلاه ومثال ذلك طريقة اخذ العينات (وزن العينة - عدد العينات الأولية) ومرجع عن مكان نشر اسلوب وطريقة اخذ العينات ، وجزء العينة الذى يدخل فى التحليل (كيفية التجهيز) ، ثبات الخلفيات خلال التخزين وكفاءة طريقة الاستخلاص الخاصة بالمركبات المختبرة ، درجة حمل اعمدة الكروماتوجرافى معبرا عنها بوزن العينة ، المركبات المناسبة للتحكم فى نظام الانسياب المناسب ، عدد الواح اعمدة GLC المناسبة والمطلوبة لفصل المركبات او الضرورية لتحقيق اغراض عامة ، حرارة العمود ومكان الحقن وكذلك وقت الظهور النسبى للمركبات مجال التحليل ومدى تخصص الكاشف وحدود الكشف (جرام/ثانية) وأقل كمية يمكن الكشف عنها (g) وتخصص الجواهر الكشفية للـ TLC والمركبات المناسبة للتحكم فى الازاحة والكشف مع الـ TLC وكذلك حدود التقدير (ملليجرام/كجم) ومعجلات الاسترجاع (محددة للمستوى) .

* الاستنتاج Conclusion :

يمكن زيادة كفاءة عملية تقدير الخلفيات المتعددة MRM's عن طريق اتباع هذه الخطوات بدقة :

أ - اتباع التعليمات الخاصة بالطريقة فيما يتعلق بتجهيز العينة والتجانس والاستخلاص دون اية تغييرات .

ب - تقدير الاسترجاع بعد عمود الكروماتوجرافى والترشيح والتبخير عند تطوير طريقة جديدة ثم تقدير الاسترجاع لهذه الطريقة بصورة منتظمة وخاصة عند استخدام مجموعات جديدة من الكيمائيات ثم تقدير الفقد خلال التخزين كما يجب المقارنة المنتظمة للمحلول القياسى مع المواد القياسية .

ج - ملاءمة معايير كل جهاز حيث لا يجب التقييد بالظروف المكتوبة فى النشرات واستخدام طريقة المادة القياسية الداخلية Internal standard بقدر الامكان وكلما كان ذلك ممكنا . كذلك يجب التحكم المناسب فى ظروف الازاحة والكشف مع مخاليط الاختيار او فى حالة TLC مع المركبات الكشفية .

د - تأكيد كل النتائج الايجابية .

الفصل السادس والعشرون

- الوضع الحالي والمستقبلي للطرق المتعددة لتقدير مخلفات المبيدات :

- مقدمة .

- عملية التحليل :

١ - فحص مستخلص الاميتون بواسطة الكروماتوجرافي الغازي .

٢ - اختبارات اضافية لمستخلص الاميتون .

٣ - الكشف عن المستخلص المائي .

٤ - الكشف عن المواد الصلبة .

٥- الاعتبارات الحالية والمستقبلية .

قائمة المراجع

الوضع الحالي والمستقبلي للطرق المتعددة لتقدير مخلفات المبيدات

Current and Future Status of Pesticide Multiresidue

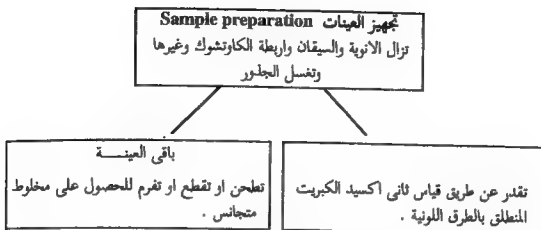
Methodology

مقدمة Introduction :

قد تختلف متطلبات الطريقة التي تستخدم لتقدير العديد من مخلفات المبيدات الموجودة معا في العينة Multi residue method تبعاً لمسئوليات المعامل وعاملي الوقت وعمق التحليل . يتضمن البرنامج الأمريكى لهيئة الغذاء والدواء هدفين رئيسيين : الاول لتحديد ما اذا كانت مخلفات المبيد في الغذاء والأعلاف تزيد عن الحدود المسموح بها او ليست لها حد مسموح وتخفض لاجراء تنظيى تشريعى مناسب . والهدف الثانى جمع بيانات عن مخلفات المبيدات فى الغذاء والأعلاف لتقييم درجة الامان وتحديد موقف الانشطة المباشرة والتخطيط للبرامج المستقبلية . تشترط سلطات ولاية لوس انجلوس ضرورة استكمال تحليل العينات فى نفس يوم وصول العينات حتى يمكن اتخاذ اية اجراءات تنظيمية اذا تطلب الامر ذلك . ان نقص المعلومات عن المبيد المستخدم على اى منتج خاص تتطلب اجراء مسح شامل خلال ساعات قليلة من وصول العينة للمعمل . الطرق الرسمية المذكورة فى AOAC (١٩٩٠) مقصورة على المبيدات الكلورينية والفوسفورية العضوية ، بينما مستخلص الاسيتون يحتوى على مخلفات اى مبيد عضوى الغير ايونية ، وحتى بعض المركبات الايونية . لقد استمر تطوير طريقة Luke بالتكامل مع الطرق المحدودة لتقدير المخلفات المتعددة لمركبات Benzimidazole (٥) و Cyhexatin (٦) والكاربامات (٧) والبيرثرويدز المخلقة (٨ - ١٠) والفينيل يوريا (١١) واحماض الكلوروفينوكس (١٢) والجليفوسات و Formetanate HCL والباراكوات (١٣) . وكل من هذه المبيدات او مجموعات المبيدات تستخلص من العينة النباتية باستخدام الاسيتون والماء او من السليلوز باستخدام الحامض . بعض المواد تتطلب ظروف خاصة لجهاز الكروماتوجرافى الغازى GC بينما يحتاج البعض الاخر الى عمليات ترشيح او تنظف قبل الادخال فى جهاز HPLC . ولكنها جميعا يمكن ان تستكمل خلال ساعات قليلة وتنتهى عمليات التحليل .

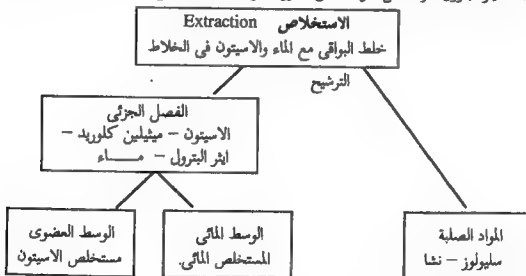
عملية التحليل The analytical process :

يعمل الكيميائيون فى معامل تقدير المخلفات فى لوس انجلوس كفريق متكامل يضطلع بمهام تجهيز العينات وتقدير المخلفات الموجودة . واتسياب عمليات التحليل يتم بالتتابع او فى نفس الوقت باستخدام خط او سلسلة من الكيميائيات والاجهزة . يبدأ الفريق عملية التحليل باخذ ثمرة او لمرتان فاكهة او عينة خضروات لتقدير ELBDC (ethylene-bis-dithiocarbamate) من خلال انطلاق ثنائى اكسيد الكبريت بينما تستخدم بقايا العينات للاستخلاص (شكل رقم ١) .



شكل (١) : رسم تخطيطي لتجهيز الثمار والخضروات للاستخلاص المتتابع تبعا لطريقة Luke .

يتم وضع ١٠٠ جم من البواقي في الخلاط مع ٢٠٠ مليلتر من الاسيتون . ثم يرشح مستخلص الماء / اسيتون للمستخلص من الاثرية . ثم يؤخذ ٨٠ مليلتر من السائل للفصل الجزئي ويعاد استخلاص الجزء الصلب مرتان بالاسيتون قبل اجراء الاستخلاص بالحامض لمبيد الباراكاوات والدايكوات . ثم يجرى الفصل الجزئي باستخدام ايثر البترول وكلوريد الميثيلين لفصل المذيبات العضوية عن الوسط المائي الذي يحتفظ به لتحليل الجليفوسات والفورميثينات يد كل او اية مخلفات أخرى ذائبة في الماء . ثم يركز الوسط العضوي في مبخر كودريندانش عن طريق اضافة ايثرا البترول لازالة كل اثار الميثيلين كلوريد تاركا المستخلص في الاسيتون (شكل ٢) .

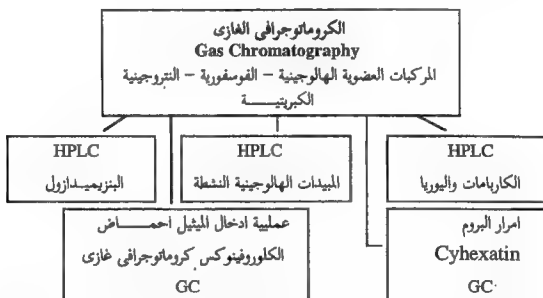


شكل (٢) : رسم توضيحي لعملية التحليل الموجودة في الإستخلاص / الفصل الجزئي من خلال طريقة ليوك .

١ - فحص مستخلص الاسيتون بواسطة الكروماتوجرافى الغازى :

تبدأ عملية فحص مستخلص الاسيتون لتقدير مخلفات المبيدات باختبارات القريلة باستخدام

عدة نظم للكروماتوجرافي الغازي (شكل ٣) . وتقوم معامل لوس انجلوس بعمل ١٦ عملية كروماتوجرافي غازي يستخدم فيها اعمدة معبأة على درجة ٢٠٠ م . هذه النظم تستخدم كاشفات اللهب اللوني (FPD-P) للمبيدات الفوسفاتية وكاشفات الفصل الكهربى Hall electrolytic conductivity للمواد الهالوجينية (ELCD-X) والمبيدات المحتوية على النترجين (ELCD - N) . وتستخدم ثلاثة اوساط سائلة ١٠١ - OV و ١٧ - OV و DEGS وهى تعطى قطبية مختلفة لتعريف المركبات ذات الازاحة المتقاربة . قيم فترات الفصل Retention time لمئات من مبيدات الافات على هذه الاعمدة متوفرة فى كتاب التحليل (الجزء الاول) FDA Pesticide Analytical Manual . هناك العديد من الانظمة تعمل على ٢٢٠ م مع الأعمدة اقل من ١ م فى الطول وذلك للمركبات التى تنساب متأخرا مثل الجوثيون والبرمثرين (الاشكال من ٤ - ٩) .



شكل (٣) : رسم توضيحي لاختلاف طرق التقدير للكشف عن مخلفات المبيدات الموجودة فى مستخلص الاسيتون بما لطريقة ليوك .

٢ - اختبارات اضافية لمستخلص الاسيتون Additional examination :

عند انتهاء واستكمال الغزلة الاولى باستخدام الكروماتوجرافي الغازي GC يمكن تجهيز مستخلص الاسيتون للتقديرات الخاصة بالدراسات الاخرى بالـ HPLC والتحولات الكمية للمركب الاصلى Derivatization . يستخدم جزء من المستخلص لكل اختبار اضافي او للتقديرات جميعها فى التحليلات الخاصة . يمكن تقدير مركبات البنزيميدازول كمجموعة باستخدام HPLC . لتحلل المبيدات بيتوميل والثيوفينات ميثايل الى الكريندازيم وهو يمثل مخلفات الموجودة فى مستخلص الاسيتون بعد عملية الفصل الجزئى . يضاف ١ مليلتر من المحلول الايونى المزدوج ثم يوضح المخلوط خلال C18 - Sep - Pak ويرشح السائل خلال مرشح سعته

٤٥ ر ميكرون ثم يحقن جزء في HPLC المزود بكاشف الأشعة فوق البنفسجية UV والفوروسنت . يقدر اللومينات وهي ناتج تحليلي آخر من مركب الثيوفينات ميثايل مع المركبات الأخرى . كما يوجد أيضا الناتج الثيوندازول يمكن تحليله وتقديره بجهاز الكروماتوجرافي الغازي المزود بكاشف حساس للتروجين .

كما يوجد في مستخلص الاسيتون المركبين Cyhexatin و Fenjbutatin ولكنهما لا يكتشفا جيدا بالكروماتوجرافي الغازي مع معظم الأعمدة . يمكن تكوين مشتق البرومين البسيط مع السيهاكسيتين يفصل جزئيا مع الوسط العضوي . يمكن ان نقدر المركبين باستخدام الكروماتوجرافي الغازي باستخدام حامض الفوسفوريك في العمود وكذلك بالكاشف صائد الالكترونات .

مستخلص الاسيتون
الكروماتوجرافي الغازي
انظمة الازاحة العادية في اجهزة الكروماتوجرافي الغازي
لمبيدات الافات الهالوجينية

المعومد	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
المادة المائلة	OV-101	٢٠٠ م	٢ متر	ELCD-X
المادة المائلة	OV-17	٢٠٠ م	٢ متر	ELCD-X
الميجاهور	Rtx-50	٢٠٠ م	١٥ متر	ELCD-X

لقد تم فصل وتعريف ١٤٠ مبيد ونواحي تمثيل بالكروماتوجرافي الخاص بالهالوجينات من ٣ ر - ٧ . بالنسبة للكلوربيريفوس (سادس كلوروز البنزين والميثوكسي كلور)

شكل (٤) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافي الغازي للكشف عن المبيدات الهالوجينية المزاحة بالطرق العادية .

مستخلص الاستيتون

الكروماتوجرافى الغازى

انتظمة الازاحة المتأخرة فى اجهزة الكروماتوجرافى الغازى

لمبيدات الافات الهالوجينية

المعمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
المادة المألقة	OV-101	٢٠٠ م	١ متر	ELCD-X
المادة المألقة	الانفرا بوند	٢٠٠ م	١ متر	ELCD-X

هذه النظم تتبع اساسا لليبرثرويدز المخلفة مثل البيرومثرين والفينقاليبرات والسيبرمثرين

شكل (٥) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى للكشف عن المبيدات الهالوجينية المزاحة المتأخرة .

مستخلص الاستيتون

الكروماتوجرافى الغازى

انتظمة الازاحة العادية

للمبيدات المحتوية على الفوسفور

المعمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
المادة المألقة	OV-101	٢٠٠ م	٢ متر	FPD-P
المادة المألقة	OV-17	٢٠٠ م	٢ متر	FPD-P
المادة المألقة	DEGS	٢٠٠ م	١ متر	FPD-P

تم الكشف عن أكثر من ١٢٠ مبيدا ونوايج تمثيل محتوى على الفوسفور بطريقة الفصل الكروماتوجرافى الغازى (من ١ - ٤ - بالقياس للكلوربيريفوس) (TEPP والثيون) يمكن فصل المركبات ذات القطبية العالية مثل الميثاميدوفوس والاسيفات والاميثوات والمونوكروتوفوس باستخدام المادة المألقة DEGS .

شكل (٦) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى لمبيدات الافات المحتوية على الفوسفور المزاحة بالطرق العادية .

مستخلص الاسيتون

الكروماتوجرافى الغازى

انظمة الازاحة المتأخرة للمبيدات المحتوية على الفوسفور

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
المادة المألقة	OV-101	٢٢٠ م	٥ متر	FPD-P
المادة المألقة	OV-17	٢٢٠ م	٥ متر	FPD-P
الميجايور	Rtx-1	٢٢٠ م	١٥ متر	FPD-P

هذه الانظمة تمكن من الكشف الكروماتوجرافى لأكثر من ٢٠ مبيد من تلك التى تتراح متأخراً مثل الكاربونفينيثيون والازينوفوس ميثايل والفوسالون .

شكل (٧) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى لمبيدات الافات المحتوية على الفوسفور والى تتراح متأخراً .

مستخلص الاسيتون الكروماتوجرافى الغازى

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
الميجايور	Rtx-1	٢٠٠ م	١٥ متر	ELCD-N
الميجايور	Rtx-35	٢٠٠ م	١٥ متر	ELCD-N
الميجايور	Rtx-50	٢٠٠ م	١٥ متر	ELCD-N

هذه الانظمة تكشف عن أكثر من ٤٠ مبيد مختلف او نواتج تمثيل محتوي على النتروجين او الكبريت وليس الهالوجين او الفوسفور . يتراوح معدلات الإزاحة النسبية مقارنة بالكلوربيريفوس من ١ - ٥ (من الـ EPTC وحتى الفينيثروباثرين) . المركبات ذات الاهتمام الأكبر فى هذه النظم هى الكاربازيل والميتاليكسيل والثيانندازول . تحتاج مركبات اللانيكارب سلفوكسيد والميثوميل ظروف خاصة .

شكل (٨) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى للمبيدات التى تتراح بالنظم العادية والمحتوية على النتروجين .

مستخلص الاسيتون الكروماتوجرافى الغازى

انظمة الإزاحة العادية GC للمبيدات المحتوية على الكبريت

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
الميجايور	Rtx-50	٢٠ م	١٥ متر	FPD-5

يمكن تقدير مخلفات مبيدات البروباجارب والـ ET4 بهذا النظم وكذلك يستخدم كاختبار تأكيدى لوجود المركبات المحتوية على الكبريت .

شكل (٩) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى للمبيدات التى تتراح بالنظم العادية والمحتوية على الكبريت .

يمكن تقدير معظم الكربامات باستخدام GC الكروماتوجرافي الغازي مع الكاشف الحساس للتروجين ولو ان بعض المركبات (مثل الالديكارب والميثوميل) تحتاج الى ظروف خاصة . البديل اخذ مستخلص الاسيتون للكروماتوجرافي الغازي قرب الجفاف ثم يخفف في ٥٠ مليلتر من الاسيتون . يوضع ٤ مليلتر من هذا المستخلص في العمود C18 SEP-1.Ak ثم يزاح باستخدام ٥٠ % محلول الاسيتونيتريل / ماء . يرشح المزاج خلال مرشح ٤٥ ميكرون ثم يحقن في APlc بعد التحول الى امينات الميثيل والفلورسنت التي تقدر . هذا النظام قادر على تقدير اكثر من ٣٠ مركب كاراماتي ونوايج التمثيل metabolites . يؤدي احلال وحدة التحلل القلوي بنظام التحلل في الاشعة فوق البنفسجية UV الى زيادة عدد ونوعية المبيدات التي يكشف عنها بما فيها مركبات الفينيل يوريا والمركبات التتروجينية .

يجرى فصل جزئي للبيرثروينز الخفلة مثل البيرمثرين والفينثايرات والسبيرمثرين وغيرها في وسط عضوي وسهل تقديرها بالكروماتوجرافي الغازي GC . الجهاز يجب ان يشغل على درجات حرارة عالية او ظروف خاصة لتحقيق حساسيات عالية . يمكن تقدير هذه المبيدات بجهاز HPLC المزودة بكاشفات النشاط الضوئي . يجرى تبخير للاسيتون حتى الجفاف باستخدام تيار من التتروجين الجاف ويؤخذ الخلفات في الاسيتونيتريل . يرشح وسط الاسيتونيتريل في مرشح ٤٥ ميكرون قبل الحقن في جهاز HPLC . نظام الجهاز HPLC يفيد ايضا في الكشف عن بعض المبيدات الهالوجينية التي لا يكشف عنها جيدا بالكروماتوجرافي الغازي مثل الكابتان والفولبيت والديكوفول والميثوكسي كلور ... الخ .

يمكن تقدير مركبات الفينيل يوريا باستخدام مستخلص الاسيتون الكروماتوجرافي extract GC acetone . العديد من هذه المركبات يمكن الكشف عنها كروماتوجرافيا والبعض حساس جدا للحرارة ومن ثم يجب تحويلها الى مركبات اخرى يمكن تقديرها بالـ GC . التحليل يجرى بنفس طريقة تقدير الكاربامات باستخدام HPLC باستخدام عمود بعد التحول مع استبدال وحدة التحلل بالاشعة فوق البنفسجية للتحلل القلوي .

احماض الكلوروفينوكس مثل ٢,٤ - د والكلوروفينوكس اميتيك اميد ومركب الداكامب والهلوكسينفوب تستخلص بالاسيتون / ماء وتفصل جزئيا في الوسط العضوي للاسيتون . هذه تجري لها عملية المخللة methelation باستخدام يوديد الميثيل والتتراي بوتيل امونيوم هيدروكسيد (TBAH) في مستخلص الاسيتون لمدة ساعة . ثم يحقن المستخلص في الكروماتوجرافي الغازي المزود بكاشف حساس للهالوجينات .

٣ - الكشف عن المستخلص المائي Aqueous extract :

قد يحتوي الوسط المائي للفصل الجزئي على مجموعة كبيرة من المبيدات الايونية مثل الدامينوزيد والجليفوسات والفورماتينات يد كل . والدامينوزيد يمكن ان يتحلل مائيا بقاعدة قوية وبعد ذلك يقطر UdmH للتقدير بالكروماتوجرافي الغازي او من خلال التفاعلات اللونية - كما يمكن ان يقدر الجليفوسات والفورماتينات يد كل بواسطة جهاز HPLC . قد توجد مبيدات اخرى

تحتوى على ايونات ذائبة فى الوسط المائى يمكن ان تقدر بالاجهزة المناسبة .

٤ - الكشف عن المواد الصلبة Solid materials :

المادة الصلبة التى تبقى على المرشح بعد الاستخلاص الاساسى بالاسيتون يمكن استخلاصها مرتان بالاسيتون حتى ينتج مسحوق ابيض نظيف . يمكن استخلاص الباراكوات والدايكوات باستخدام حامض قوى . وهذا المستخلص التنظيف ينظم فى محلول منظم buffered ثم تحقن فى جهاز HPLC المزود بكاشف الاشعة فوق البنفسجية . لا يرتبط الدايفينزوكوات بشدة على السيليلوز ومن ثم تفصل جزئياته وسط الاسيتون العضوى .

الاعتبارات الحالية والمستقبلية Current & future considerations :

لقد طورت طريقة Luke حتى وصلت الى النقطة التى تحققت من خلالها وجود عمليات تحليل واسعة تقدم خيارات كثيرة امام القائم بالتحليل وهذا يعتمد على نوعية المخلفات المطلوب تقديرها . هناك العديد من مبيدات الآفات، ونواجج تمثيلها لم تدرج فى دراسات الاسترجاع وهذه يمكن تقديرها اذا توفرت اجهزة وطرق متقدمة . لقد قيمت العديد من التكنولوجيات فى بحوث تحليل مخلفات المبيدات . بالطبع تمر كل طريقة بالعديد من الاختبارات للحكم على فائدتها . بعض هذه الطرق مستصيح من ضمن الخيارات فى طريقة ليوك والبعض الآخر ستكون منافسة لها

طريقة السائل الفائقة التميز Super critical fluids قد تحقّق الحصول على مستخلصات متخصصة او مستخلصات كلية . التغير فى الحرارة والضغط قد يغير من المركبات التى تستخلص . والتغيرات الاضافية فى الغازات ودرجة الحموضة تزود هذا التكنيك بامكانية فائقة فى الاستخلاص التخصصى والتى تعمل على تنظيف العينة فى نفس الوقت Clen-up . قد تستخدم هذه السوائل SCFS فى اجهزة التحليل للفصل الكروماتوجرافى . هذا التكنيك يفيد جدا فى تقدير المركبات التى تنهار بالحرارة .

لقد طور تكنيك نظم التقدير الحيوى باجهزة المناعة (immunoassays) لتقدير العديد من المبيدات ومنتجات تمثيلها وكذلك لمجموعات من المركبات المتشابهة . قد يستخدم هذا التكنيك بصورة منفصلة او بالتكامل مع غيرها من طريق التقدير المتعدد للمخلفات .

العديد من المعامل تستخدم الكروماتوجرافى الشعري واعمد الميجابور والتى حلت محل الاعمد الملبأة وتتميز الاعمد الجديدة بطولها الزائد ويوجد فى معامل لوس انجلوس انواع مختلفة من الميجابور ذات القطبية المختلفة . عندما توضح الاختبارات قبول صلاحية هذه الاعمد فى التعريف والتقدير الكمي للمخلفات يمكن ان تستخدم مكان الاعمد الملبأة .

REFERENCES قائمة المراجع

1. P. S. Mills, J. H. Onley, R. A. Gaither, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 46 (1963) 186.
2. M. A. Luke, J. E. Froberg, H. T. masumoto J. Assoc. Off. Anal. chem. 58 (1975) 1020.
3. M. A. Luke, J. E. Froberg, G. M. Doose, H. T. masumoto J. Assoc. Off. Anal. chem. 64 (1981) 1187.
4. Official Methods of Analysis, 15th Edition, Edited by kenneth Helrich, Association of Official Analytical Chemists, Wahsington D. C. Volume 1, 982.22 (1990)
5. S. M. Walters, D. M. Gilvydis Laboratory Information Bulletin # 3217. U. S. Food & Drug Administration. Washington D. C. (1988).
6. T. James, dW. Langham. laboratory Information Bulletin #2292. U. S. Food & Drug administration, Washinton D. C. (1985).
7. Official methods of Analysis, 15th Edition, Edited by Kenneth heirich, Association of Official Analytical Chemists. Washington D. C., Volume 1, 975.40 (1990).
8. M. A. Luke, H. T. masumoto in Analytical methods for pesiticides and Plant Growth Regulators. Ed. Sherma and Zweig. Academic press. Vol XV. Chapter 6, page 161-200.
9. J. E. Forberg, G. M. Doose in Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators, Ed. Sherma and Zweig, Academic Press, Vol XIV. Chapter 2, page 41-74.
10. T. Cairns, E. G. Siegmund in Analytical methods for Pesticides and Plant Growth Regulators, Ed. Sherma and Zweig, Academic Press. Vol. XIV. Chapter 6. page 193-253.
11. R. G. Luchtefeld. J. Chromatogr. Sci. 23 (1985) 516.
12. pesticide Analytical Manual, U. S. Food & Drug Administration, Wash- ington D. C. (1990).
13. L. Needham, D. paschal. Z. J. Rollen, J. Liddle, D. Bayse, J. Chromatogr. Sci. 17 (1979) 87.

الفصل السابع والعشرون

- الاختبارات التأكيديّة

- * مقدمة .
- * طرق اختبارات التأكيد التقليديّة .
- * كروماتوجرافى الألواح المغطاة .
- * الكروماتوجرافى السائل ذو الضغط العالى .
- * الكروماتوجرافى الغازى .

- الطرق البولاروجرافية « الاستقطاب » والطرق المرتبطة بها .

- * مقدمة .
- * ظروف التقدير البولاروجرافى والفولتامترى .
- * الطرق البولاروجرافية الغير مباشرة .
- * الاجهزة والمذيبات .
- * مشاكل الفصل والمعاملات المسبقة للقياسية .
- * الفصل والتقدير بالكروماتوجرافى .
- ١ - التحليل الكروماتوجرافى .
- ٢ - التحليل الكروماتوجرافى بالورق .
- ٣ - التحليل الكروماتوجرافى باعمدة الادمصاص .
- ٤ - التحليل الكروماتوجرافى عن طريق تبادل الايونات .
- ٥ - التحليل الكروماتوجرافى الغازى .
- ٦ - المذيب .
- ٧ - نظام المذيبات .
- ٨ - الصورة او الوسط الثابت

- ٩ - الصورة المتحركة .
- ١٠ - الكروماتوجرافى المعكوس .
- ١١ - عملية الفصل الكروماتوجرافى .
- ١٢ - كائينة الفصل .
- ١٣ - خط حدود المذيب .
- ١٤ - قيمة معدل الانسياب .
- ١٥ - HRF value
- ١٦ - Rst Value
- ١٧ - التدرج .
- ١٨ - الكشف .
- ١٩ - الكروماتوجرافى المرشد .
- ٢٠ - كروماتوجرام الشرائع .
- ٢١ - كروماتوجرام المخطوط او المناطق .
- ٢٢ - فترة الاتزان بالتشيع .
- ٢٣ - فترة الفصل الكروماتوجرافى .
- ٢٤ - المواد القياسية .

الاختبارات التأكيديّة

Confirmatory tests

* مقدمة Introduction :

تلعب الاختبارات التأكيديّة دوراً هاماً في تحليل والكشف عن مخلفات المبيدات . في الوقت الحالي يوجد القليل من طرق التحليل متاحة وهي قادرة لوحدها على تعريف مخلفات المبيدات في كميات صغيرة جداً . الطرق المرتبطة بالطرق الاسبكتروفوتومترية ذات المقدرة على الفصل العالي بناء على الكتلة يحقق هذه الفترة الخاصة بالكشف والتأكيد على المخلفات ولكن بسبب التكلفة العالية والطبيعة المعقدة وظروف التشغيل الخاصة لم تجد هذه الطريقة مجالا واسعا وشيوعا في تحليل المبيدات على مستوى المخلفات ولكنه يستخدم كاختبار تأكيدي بعد التحليل بأي طريقة أخرى .

الهدف من الاختبار التأكيدي هو تأكيد النتيجة التي تحصل عليها الباحث في التحليل الاولى لكنه يجري تحت ظروف مختلفة تجريبيا عما اجريت في التحليل الاولى وهذا الاختلاف قد يكون في وسيلة القياس ومثال ذلك لو ان المبيد حلل بطريقة الامتصاص في الاشعة فوق البنفسجية يمكن التأكيد باستخدام التحليل بالاشعة تحت الحمراء او الاسبكتروفوتومتري ذو الرنين النووي المغناطيسي . تستخدم المواصفات الطبيعية لتأكيد نتائج تحليل المخلفات خاصة مع الكروماتوجرافي الغازي حيث ان التفسير في وقت الاحتجاز للمبيدات مع اختلاف الاوساط الثابتة يمكن الاعتماد عليه كاختبار تأكيدي . اختبارات التقييم الحيوي يمكن ان تستخدم لتأكيد نتائج الكروماتوجرافي او اى وسيلة اخرى . كذلك يمكن استغلال التحويل الكيميائي في المركب للحصول على مركب معروف كاختبار تأكيدي وهذه قد تجرى على نطاق صغير او كبير وهي تتميز بالبساطة والسرعة وقد تكون طويلة وكثيرة الخطوات ولكنها تحتاج لجواهر كشافة خاصة واجهزة معينة .

كلما زاد عدد الاختبارات كلما تأكدت نتائج التحليل للمركبات المجهولة بدرجة افضل كثيرا من اجراء التحليل باختبار واحد مع ضرورة الأخذ في الاعتبار ان بعض طرق التأكيد أكثر نفعا وصلاحيّة من غيرها وعلى سبيل المثال يعتبر بعض الباحث ان التأكيد بالكروماتوجرافي الغازي للمبيدات بناء على فترات الاحتجاز وعلاقتها بالاوساط الثابتة ذات درجات القطبية المختلفة من الطرق الغير جيدة الفعيرة . نفس الكلام يقال على كروماتوجرافي الالواح المغطاة حيث تستخدم نظم مدييات مختلفة لتأكيد وجود المبيد . قيمة الاختبار التأكيدي تحدد بنوع التأكيد الذي تحقق مع المركب او مثال ذلك ان الاختبار الذي يعتمد على الامتصاص بالاشعة فوق البنفسجية على ٢٥٤ نانوجرام ذو استخدام قليل في تأكيد التحليل بسبب ان العديد من المركبات تمتص في هذه المنطقة . بعبارة أخرى يجب ان تكون اختبار التأكيد متخصص للحصول على معلومات مفيدة عن المركب المجهول ويجب ان يكون اختبار التأكيد مماثل في حساسيته لنفس طريقة التحليل القياسية . كما يجب ان تكون الطريقة قادرة على الكشف عن المواد المجهولة في الوسط المعقد من خلال

تجنب المواد المجهولة في الوسط المعقد من خلال تجنب المواد المتداخلة من خلفية التحليل وعن غير
من المبيدات . يجب ان يكون التحليل بسيطاً وسريعاً .

معظم طرق التأكيد تتضمن بعض خطوات الكروماتوجرافي وغالباً يستخدم الكروماتوجرافي
الغازي وكروماتوجرافي الالواح المغطاة وبعدها الكروماتوجرافي فائق المقدرة ذو الضغط العالي . لقد
اختلفت تقريبا طرق التحليل القياسي التقليدية في الكشف عن اثار مخلفات المبيدات في العينات
المحتوية عليها . من اكثر الطرق شيوعاً مع الكروماتوجرافي هو تحويل المركب المجهول لمركب آخر
يمكن تقديره بنفس طريقة الكروماتوجرافي التي استعمل في الطريقة الأساسية . وميزة هذا التكنيك
عدم الحاجة الى اجهزة مكلفة لاختبارات التأكيد علاوة على ان تفاعلات التحول عالية التخصص
في تعريف المركبات المجهولة .

* طرق اختبارات التأكيد التقليدية Classical confirmatory tests :

منذ اختراع الكروماتوجرافي الغازي قبل ٢٠ عاما مضت قلت واتحصرت طرق تحليل المبيدات
التقليدية بالطريقة المثيلة في الالهمية . ترتبط هذه الطرق بالتكنيكات الاسبكتروفوتومترية التي
تستخدم فيها الاشعة فوق البنفسجية والضوء المرئي والامتصاص في الاشعة تحت الحمراء للمبيد
نفسه او لأحد مشتقاته في القياس وبينها علاقة بالتركيزات . الطرق اللونية (الامتصاص المرئي)
للمشتق المناسب من الوسائل المعادية لتحليل المبيدات بالطريقة الكيميائية المثيلة بينما تستخدم
الاشعة تحت الحمراء لأغراض التأكيد بتعريف المجموعات الفعالة . الطرق اللونية لمستحضرات
المبيدات مازالت تظهر في المراجع وهذه تفيد في تقدير نوعية المستحضرات مع العلم بان المادة
الفعالة في المستحضر معروفة والمطلوب فقط من الاختبار هو تحديد التركيز (المراجع ارقام ١ ، ٢ ،
٣ - ٦) وهناك مراجع كثيرة عن الجواهر الكشافا لظهور المبيدات (المراجع - ٧) .

* كروماتوجرافي الالواح المغطاة Thin layer chromatography :

تستخدم طريقة TLC بشكل كبير لتأكيد النتائج التي تحصل عليها من الكروماتوجرافي
الغازي او اى طرق اخرى حيث يعتمد التأكيد على قيمة الانسياب RF وهذه القيم تستخدم ايضا
للمقارنة بين كفاءة وصلاحيه المذيبات المختلفة والاعتماد على هذه القيم لوحدها قد يتسبب في
اخطاء شنيعة . ان الاختبارات التأكيديه الكيميائية مع TLC تعطى معلومات مفيدة في تعريف
المبيد حيث يمكن اجراء التفاعل قبل TLC حيث يجرى اختيار تحويل المركب الاصلى وبعد
ذلك يستخدم الـ TLC للتأكد من المركب الناتج . في المقابل يمكن اجراء اختبار التأكيد مع الـ
TLC عندما يكون المركب ما زال على طبقة الجليل باستخدام ثلاثة جواهر كشافا مختلفة وفي
هذه الحالة ترتبط قيم RF مع المبيد . لقد سبق وصف هذه الطرق بالتفصيل من قبل .

تفاعلات الرش لظهور بقع تواجد المبيد المفصول على الـ TLC تماثل ما يحدث مع
تفاعلات المحاليل باستثناء انها تجري على طبقات ادمصاصية . حيث ان معظم المبيدات عديمة

اللون خاصة في حالة التركيزات البسيطة المستخدمة في الـ TLC تستخدم محاليل او جواهر كشافة للرش ليس للتأكيد فقط ولكن لظهار البقع . يمكن معاودة رش نفس البقع بمواد اخرى للتأكيد بناء على تداخل قيم الـ Rf وتحدث استجابات موجبة أو سالبة لجواهر كشافة معينة كما تتكون ألوان مختلفة وحساسية هذه الجواهر الكشافة في حدود ميكروجرامات قليلة وهي مناسبة تماما للكشف عن المستحضرات وتحديد الجودة ولكنها لا تصلح مع المخلفات . الجدول التالي يوضح العديد من الجواهر الكشافة التي تستخدم للكشف عن المبيدات المفصولة بالـ TLC (التفاصيل موجودة في المراجع ٥١ - ٥٣) .

لقد شاع استخدام طريقة دمج TLC مع الانزيم للفرقة بين المبيدات وكذلك لتأكيد نتائج التقدير الاخرى . قد سبق الكلام عنها بالتفصيل وهي تلائم جدا انواع المبيدات التي تؤثر على النظم الانزيمية مثل المبيدات الفوسفورية والكريامات والحساسية في حدود نانوجرامات . يستخدم مخلوط الانزيم مع الوسيط على الطبقات وشا بنفس الطريقة المستخدمة مع الجواهر الكشافة والكيميائية .

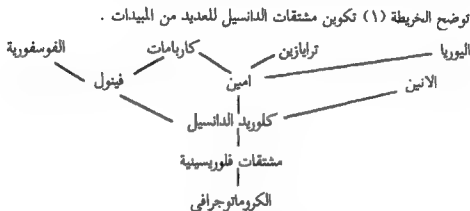
تكوين المشتقات الكيميائية للتأكيد على نوعية المبيد في التحليل للمستحضرات او المخلفات قبل اجراء عملية الـ TLC لم تلق شيوعا . تتميز هذه الطريقة انه يمكن التحكم اكثر في ظروف التفاعل كما انها اوسع من محاليل الرش على طبقات الادمصاص TLC كما ان هذه الطريقة « التفاعلات ما قبل TLC » تتضمن تكوين مشتقات ملونة او فلوريسينية مع تجنب عدم انتظام الخلفية في حالة الرش . لسنا في حاجة للقول ان قيم الانسياب RF للمركب المتحول تختلف عن قيم المركب الاصل مما يمكن استغلاله في التأكيد . كما يمكن استخدام جواهر كشافة اخرى تعطى ألوان مختلفة عن الاصل . استخدم الباحث Ishikawa وآخرون عام ١٩٧١ مشتقات ٤ بنتروينزين ديازو الموجودة في الشق الفينولي لبعض المبيدات الحشرية الكارباماتية للتقدير في حبوب الازر حيث يجرى تحليل مائي للمركبات في البداية والفينولات الناتجة تتحول الى مشتقات ملونة للفصل والتقدير . لقد اجرى Yip and Howard عام ١٩٦٦ عملية مثالة لمبيدات حشائش منها مجموعة داي نيتروفينول للفصل بعد ذلك بالـ TLC باستخدام الكروماتوجرافي المعكوس . يتم اظهار المشتقات بالرش بمخلوط من كلوريد القصديرز مع بارا - داي ميثيل امينو بنزالدهيد كما في الجدول (١) . مشتقات الميثيل اكثر حساسية يمكن الكشف عنها في حدود صغيرة للغاية .

جدول (١) : الجواهر الكشافية لرش المبيدات المفصولة على الألواح المغطاة

Pesticide	Spray reagent	Reference
Organochlorine insecticides	AgNo ₃ , 2-phenoxuethanol	8
	AgNo ₃ in layer	9
	Diphenylamine, zinc chloride	10
	Rhodamine-B	11
	O-Toluidine	12
	Iodine vapor	13
Organochlorine herbicides	AgNo ₃ , 2-phenoxuethanol	8
	Chromotropic acid	14
Organophosphates	Tetrabromophenolphthalein, AgNo ₃ , citric acid	8
	4-(p-Nitrobenzyl) pyridine, tetraethylenepentamine	8, 15
	Bromine, AgNo ₃	16
	2, 6-Dibromobenzoquinine-4-chloroimide	17-19
	Ammonium molybdate, perchloric acid	18, 20
	Rhodamine B	21
	Flavones	22
	1,2-Dichloro-4, 5-dicyanobenzoquinone	23
	Congo red	24
	Fluorescein	24
	PdCl ₂	24
	Metal ion, chelating agent	25, 26
	4-Picoline, p-dinitrobenzene	27
	AgNO ₃ , Platinate	28
	Benzylcyanide, triton B	29
	Methyl yellow	30
Carbamates	KOH, p-nitrobenzenediazonium fluoborate	31
	Bromine, fluorescein	31
	Rhodamine-B, ultraviolet	31

Pesticide	Spray reagent	Reference
	Pentacryptol yellow	31
	p-dimethylaminobenzaldehyde	32
	AgNo ₃ , 1-naphthol	32
	Bratton-Marshall	33
	k ₂ MnO ₃ , ultraviolet	34
	Diphenylpicrylhydrazyl	35
	vanillin, sulfuric acid	35
	Ninhydrin	36
	Flavones	37
Triazines	Chlorination, Tobludine, KI	38
	AgNO ₃	39
	Brilliant green, bromine	40
Dinitrophenols	Stannous chloride, p-dimethylaminobenzaldehyde	41
	KOH, ultraviolet	42
	Bratton-marshall	43
Uracils	Brilliant green	44, 45
Dithiocarbamates	CuCl ₂ , hydroxylamine	46
	Sodium azide	47
Pyrethrins	Anisaldehyde, H ₂ SO ₄	48
	SbCl ₃	
Methylenedioxyphenyl synergists	Chromotropic acid, H ₂ SO ₄	49
	Furfural, H ₂ SO ₄	49
	SbCl ₃	50
	Phosphomolybdic acid	50
	2, 4-Dinitrophenylhydrazine	50
	KI, starch	50
	AgNO ₃ , KOH	50

استخدمت المشتقات الفلوريسينية لتقدير المبيدات بالـ TLC (المراجع ٥٥) قد ثبت كفاءة العديد من الجواهر الكاشفة تصلح للكشف عن الكميات الدقيقة من المبيدات . استخدم مادة دانسيل كلوريد (٥ - ٥ داي ميثيل امينوفثالين - ١ - ملفونيل كلوريد) للكشف عن نواتج التحليل القلوية للكاربامات (مراجع ٥٦) واليوربا (٥٧) وبعض المبيدات الفوسفورية (٥٨) والهيدروكسي بيغينيل (٥٩) في العينات المحتوية على ١, ٠ جزء في المليون أو أقل . كما اختبر هذا الجهر الكشاف للتأكد من مبيدات الحشائش الترايازين بعد التحلل المائي بيالحامض في المواد الغذائية .

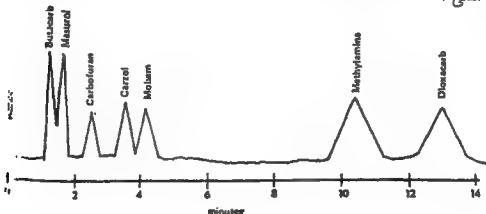


شكل (١) : تكوين مشتقات الدانسيل .

* الكروماتوجرافي السائل ذو الضغط العالي

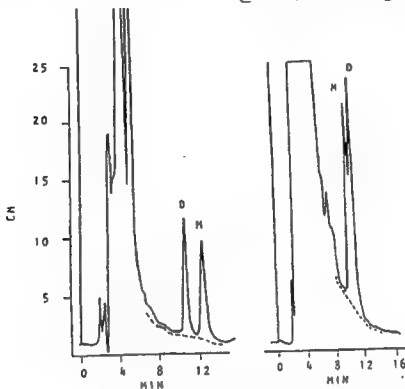
High pressure liquid chromatography

العديد من التفاعلات التي تستخدم لتكوين المشتقات قبل الفصل بالـ TLC يمكن ان تستخدم مباشرة للتحليل بالكروماتوجرافي السائل ذو الضغط العالي HPLC . هناك العديد من التفاعلات ونظم الكشف بهذه الطريقة لمشتقات العديد من المركبات (٥٥، ٥٧) والمبيدات . استخدم طريقة الدنسله الفلورومتريه للكشف عن مركبات الكاربامات بالـ HPLC كما في الشكل التالي :



يمكن تقدير البينوميل بتكوين مشتق MBC بواسطة التحليل المائي الحامضي (٧٩) وحساسية الطريقة في حدود ٠,٠٥ - ٠,١ جزء في المليون في مختلف المحاصيل والاراضي .
التأكيد على مركبات البوربا كمبيدات حشائش بواسطة المثلة methylation في المواد الغذائية (٨٠) وحساسية في حدود ٠,٠٥ جزء في المليون .

الشكل (٤) يوضح الكشف التأكيدي للمونيرون والديورون في النرة ... هناك تفاعلات التحويل مثل الاستلة والاختزال ... الخ .



* الكروماتوجرافى الغازى Gas chromatography :

من أكثر الطرق شيوعا في تحليل المبيدات على صورة المستحضرات او المخلفات . هذا الاسلوب مهم جدا في الاختبارات التأكيدي وهو من أكثر اختبارات التأكييد للمبيدات الكلورينية خاصة الـ د د ت ومشتقاته بعملية فقد الكلورة بالقلوى "dehydrochlorination" مثل الصوديوم أو بوتاسيوم بتوكسيد .. كما في الجدول التالى :

جدول (٢) : الاختيارات التأكيذية للمبيذات الكلورينية المضوية

Pesticide class	Reagent or reaction type ^a	Reference
General	CrCl ₂ reduction (26)	104
	KOH dehydrochlorination (46)	84, 105
Hexachlorobenzene (HCB)	Base/alcohol	100-103, 106
	KOH hydrolysis/diazomethane	101
BHC isomers	NaOMe/MeOH or GC alkaline precolumn	102
Cyclodiene insecticides	Comparisons of 8 methods (D)	107
	10 various reactions (D)	108
	BCi ₃ /2-chloroethanol (D/E)	109
	UV irradiation (D/E/H)	110-113
	H ₂ SO ₄ or 60% KOH (E/M)	114
	t-BuOK/t-BuOH or CrCl ₂ (E/M)	91, 92, 115, 116
	Acid or base-Al ₂ O ₃ micro column (C/E/H/T/M)	117-122
	Base-catalyzed intramolecular cyclization (T)	123
	Silylation/acetylation (T/M)	124
Mirex	UV dechlorination	125
Kepone	KOH/esterification	126
	LiAlH ₄ /PCl ₅	127
PCBs	SbCl ₅ perchlorination	128-130
Chlorobiphenyls and PCP	Acetylation and butylation	131
DDT	Reduction and /or oxidation	132, 133

^aFigures in parentheses indicate the number of pesticides studied, whereas letters indicate the particular pesticide (s) confirmed: C = chlordanes, D = dieldrin, E = endrin, H = heptachlor, T = Thiodan (endosulfan), and M = metabolites.

(Source : From Ref. (82), courtesy W. P. Cochrane and the Journal of Chromatographic Science.)

هناك طرق عديدة للمبيدات الفوسفورية العضوية من أهمها إجراء التحلل المائي على أن يكون متبوعاً بتحويل في مجموعات الفوسفات أو الألكيل أو الأريل . مشتقات مجموعة الفوسفات تتضمن الألكلة مع الداي إيزوميثان أو الداي إيزو إيثان والتحليل المائي يجرى تحت ظروف قاعدية ثم يتبع بالتنظيف والفصل لمجموعة الفوسفات بعملية الألكلة وتحويلها إلى الألكيل إيثر . هذه الطريقة حساسة في الكشف عن مخلفات المبيدات في العديد من المواد الغذائية .

الاختبارات التأكيدي للمبيدات الفوسفورية التي تشمل مشتقات التحلل الفينولي أكثر تخصصاً عن نظيرها من مشتقات مجموعة الفوسفور ، تشير إلى أن أي مجموعة فينول تتكون من الانهيار البيئي أو تمثيل العينة يمكن التخلص منها في البداية ثم تحلل وحدها ومن ثم لا تتداخل مع الاختبارات التأكيدي للمركب الأصلي . تفاعلات الاشتقاق لمجموعات الفينول تتضمن تكوين الاسترات أو الأثيرات . الاسترة بمركب التري كلورواستيتك أنهيدريد (TFAA) أو هيتافلورويثيريل أنهيدريد (HFBA) وغيرها من الجواهر الكاشفة تعطي استجابة كبيرة لاصطياد الإلكترونات (المراجع ١٣٨ - ١٤٠) .

التأكيد من خلال المعاملة المباشرة للمبيدات الفوسفورية (المركبات الصلبة) ذات ميزات عديدة حيث تجنب خطورة التحلل المائي والاستخلاص مما يوفر الوقت ويقلل من عدد العينات . الاختبار التأكيدي من خلال الأكسدة للمركبات الفوسفورية المحتوية على التركيب $\text{FO} = \text{K}$ وتحويلها إلى $\text{FO} = \text{A}$ بواسطة هيبوكلوريت الصوديوم حساسة للكشف عن مركبات الباراليون والملاثيون والميثيل براليون والفينتروثيون والروزيل والديازينون في حدود تركيزات من ٠,٢٥ وحتى ٠,٥ جزء في المليون في بعض المخضر والفاكهة (١٤٤) باستخدام الكشاف الضوئي باللهب (FPD) . المركبات الفوسفورية المحتوية على مجموعة النيترو يمكن التأكد منها بالاختزال إلى مشتقات الأمينو بواسطة المواد المختزلة مثل كلوريد الكروم أو كلوريد المخارصين أو الزنك مع حامض الأيدروكلوريك . يتم الكشف عن المشتقات تحت نفس الظروف الكروماتوجرافية ولكن على فترات احتجاز قليلة بالمقارنة بالمركبات الصلبة (١٤٥) ولكن بسبب فقد النيترو تصبح المشتقات أقل حساسية لكشاف صائد الإلكترونات . على سبيل المثال فإن الأمينو براليون أقل بمقدار ٤٠٠ مرة في الحساسية من الباراليون نفسه للكشاف ECD .

المركبات الفوسفورية المحتوية على مجموعة أمينو أولية أو ثانوية يمكن تأكيد الكشف عنها مباشرة بالاستلة الفلورية الثلاثية "TFA - Trifluoroacetylation" وهذه الطريقة يمكن تأكيد وجود مركب الأزورين عند مستويات من ٥ - ١٠ جزء في البليسون في الفروالة باستخدام كشاف "FPD" .

الشكل (٨) يوضح التفاعل والشكل (٩) يوضح مثال لتأكيد وجود المادة الفعالة • مونوكروتوفوس • في الفروالة .

الكلية المبيدات الفوسفورية المحتوية على مجاميع (ن د -) استخدمت مع العديد من المركبات للكشف عنها مثل الكروماتومات والديامثوات والمونيتور وباير ٩٣٨٢٠ . حيث أن هذا التفاعل يجرى

REFERENCES قائمة المراجع

1. W. Horwitz, Ed.. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C., 1975.
2. F. A. Gunther and R. C. Blinn. analysis of Insecticides and Acaricides. Interscience, New York, 1955.
3. S. Williams and J. W. Cook, Anal. Chem, 39, 142R (1967).
4. S. Williams and J. W. Cook, Anal. Chem, 37, 130R (1965).
5. W. E. Westlake, Anal. Chem. 35, 105R (1963).
6. W. E. Westlake, Anal. Chem. 33, 88R (1961).
7. F. Feigl. Spot Tests in Organic Analysis. Elsevier, Amsterdam, 1966.
8. R. E. Duggan, Pesticide Analytical manual, Vol. 1. U.S. Food and Drug Administration, Washington, D. C., 1969. 4.
9. W. A. Moats, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 49, 795 (1966).
10. L. J. Faucheux, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 48, 955 (1965).
11. W. Ebing, J. Chromatogr. 44, 81 d(1969).
12. K. Visweswariak and M. Jayaram, J. Chromatogr. 62, 479 (1971).
13. K. Suzuki, K. Mujashita, and T. kashiwa, Bull. Agric. Chem. Insp. Sta. 10, 24 (1970).
14. C. Meinard, J. Chromatogr. 61, 173 (1971).
15. R. R. Watts, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 48, 1161 (1965).
16. B. Y. Giang and H. F. Beckman, J. Agric. Food Chem. 17, 63 (1969).
17. J. J. Menn. W. R. Erwin, and H. T. Gordon, J. Agric. Food Chem. 5, 601 (1957).
18. J. Stenerson, J. Chromatogr. 38, 538 (1968).
19. J. Stenerson, J. Chromatogr. 54, 77 (1971).
20. F. Jangnickel, J. Chromatogr. 31, 617 (1967).
21. W. Ebing. J. Chromatogr. 40, 180 (1970).
22. R. W. Frei, V. Mallet, and C. Pothier, J. Chromatogr. 59, 135 (1971).

23. P. E. Beliveau and R. W. Frei, *Chromatographia* 4, 189 (1971).
24. K. Nagasawa and H. Yoshidome, *J. Chromatogr.* 39, 2828 (1969).
25. P. E. Beliveau, V. Mallet, and R. W. Frei, *J. Chromatogr.* 48, 478 (1970).
26. T. F. Bidleman, B. Nowlan, and R. W. Frei, *Anal. Chem. Acta* 60, 13 (1972).
27. M. T. H. Ragab, *Anal. Lett.* 1, 973 (1968).
28. H. Beitz and M. Ehrt, *Z. Chem.* 8, 387 (1968).
29. W. Ebing, *Chimia* 29, 132 (1967).
30. M. T. H. Ragab, *Lab. Pract.* 20, 489 (1971).
31. K. Nagasawa; H. Hoshidome, and F. Kamata, *J. Chromatogr.* 52, 453 (1970).
32. M. A. Eldib, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 53, 756 (1970).
33. J. H. Onley and G. Yip, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 52, 526 (1965).
34. M. Look and L. R. White, *J. Chromatogr.* 50, 145 (1970).
35. J. M. Finocchiaro and W. R. Benson, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 50, 888 (1967).
36. S. E. Katz, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 50, 911 (1967).
37. V. Mallet and R. W. Frei, *J. Chromatogr.* 54, 251 (1971).
38. S. Kondela, *J. Chromatogr.* 53, 589 (1970).
39. R. Delley, K. Friedrich, B. Karlhuber, G. Szekely, and K. Stammback, *Z. anal. Chem.* 228, 23 (1967).
40. D. C. Abbott, J. A. bunting, and J. thomson, *Analyst* 90, 357 (1965).
41. G. Yip and S. F. Howard, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 49, 1166 (1966).
42. D. R. Clifford, D. M. Fieldgate, and D. A. Watkins, *J. Chromatogr.* 43, 110 (1969).
43. A. Guardigli, W. Chow, and M. S. lefar, *J. Agric. Food Chem.* 19, 1181 (1971).
44. F. G. Von Stryk and G. F. Zajacz, *J. Chromatogr.* 41, 125 (1969).

45. D. C. Abbott, K. W. Blake, K. R. Tarrant, and J. Thomson, *J. Chromatogr.* 30, 136 (1967).
46. J. W. Hylin, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1, 76 (1966).
47. M. S. Vekshtein and M. A. Klisenko, *Vop. Pitan* 29, 56 (1970).
48. E. Stahl and J. Pfeifle, *Naturwissen*, 52, 620 (1965).
49. M. Beroza, *J. Agric. Food Chem.* 11, 51 (1963).
50. E. Stahl, *Arch. Pharm.* 293, 531 (1960).
51. J. Sherma, *Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators*, Vol. 7 (G. Zweig, Ed.). Academic Press, London, 1973, p. 3.
52. J. M. Carasco-Dorrien, *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 10, 357 (1970).
53. R. R. Watts, *RES. Rev.* 18, 105 (1967).
54. K. Ishikawa, Y. Yusa, Y. Asano, and K. Akasaki, *Jap. analyst* 20, 461 (1971).
55. J. F. Lawrence and R. W. Frei, *J. Chromatogr.* 98, 253 (1974).
56. R. W. Frei and J. F. Lawrence, *J. Chromatogr.* 67, 87 (1972).
57. J. F. Lawrence and G. W. Laver, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 57, 1022 (1974).
58. J. F. Lawrence, C. Renault, and R. W. Frei, *J. Chromatogr.* 121, 343 (1976).
59. M. Frei-Hausler, R. W. Frei, and O. Hutzinger, *J. Chromatogr.* 79, 209 (1973).
60. J. F. Lawrence and G. W. Laver, *J. Chromatogr.* 100, 174 (1974).
61. J. F. Lawrence and R. W. Frei, *Anal. Chem.* 44, 2046 (1972).
62. R. W. Frei and J. F. Lawrence, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 55, 1259 (1972).
63. D. J. Pietrzyk and E. P. Chan, *anal. Chem.* 42, 37 (1970).
64. O. N. Devgan, S. K. Gupta, and M. M. Bokadia, *J. Indian Chem. Soc.* 42, 395 (1965).
65. T. Nakai, H. Demura, and M. Koyama, *J. Chromatogr.* 66, 87 (1972).

66. E. Sawicki and R. A. Carnes, *Mikrochim. Acta* 1967, 148 (1967).
67. M. Guyer and E. Sawicki, *Anal. Chim Acta* 49, 182 (1970).
68. T. Sekine, K. Ando, M. Machida, and Y. Kanoaka, *Anal. Biochem.* 48, 557 (1972).
69. T. Amano, *Yakugaku Zasshi (J. Pharm. Soc. Jap.)* 86, 1 (1966).
70. C. P. Ivanov and Y. Vladovaska-Yukhnovska, *Biochem. Biophys. Acta* 194, 345 (1969).
71. Z. Deyl, *J. Chromatogr.* 48, 231 (1970).
72. dL. Edvinsson, R. Hakanson, A. L. Romberg, and F. Sundler, *J. Chromatogr.* 67, 81 d(1972).
73. L. Edvinsson, R. Hakanson, and F. Sundler, *Anal. Biochem.* 46, 473 (1972).
74. M. Wiegeler, S. L. De Bernardo, J. P. Teng, and W. Leimgruber, *J. Amer. Chem. Soc.* 94, 5927 (1972).
75. J. F. Lawrence and R. W. Frei, *Chemical Derivatization in Liquid Chromatography*. Elsevier, Amsterdam, 1976.
76. R. W. Frei, J. F. Lawrence, J. Hope, and R. M. Cassidy, *J. Chromatogr. Sci.* 12, 40 (1974).
77. J. F. Lawrence, C. Renault, and R. W. Frei, *J. Chromatogr.* 121, 343 (1976).
78. J. F. Lawrence and R. Leduc, *J. Chromatogr.* 152, 507 (1978).
79. J. J. Kirkland, R. F. Holt, and H. L. Pease, *J. Agric. Food Chem.* 17, 267 (1969).
80. J. F. Lawrence, *J. Assoc. Offic. Anal. chem.* 59, 1066 (1976).
81. W. P. Cochrane and A. S. Y. Chau, *Adv. Chem. Ser.* 104, 2 (1971).
82. W. P. Cochrane, *J. Chromatogr. Sci.* 13, 245 (1975).
83. C. E. Mendoza, P. J. Wales, H. A. McLeod, and W. P. McKinley, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 51, 1095 (1968).
84. R. T. Krzuse, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 55, 1042 (1972).
85. A. S. Y. Chau and W. P. Cochrane, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 5, 133 (1970).

86. F. Gunther and R. C. Blinn, *J. Agric. Food Chem.* 5, 517 (1957).
87. A. S. Y. Chau and W. P. Cochrane, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 52, 1220 (1969).
88. C. W. Bird, R. C. Cookson, and E. Crundwell, *J. Chem. Soc.* 1961, 4809 (1961).
89. W. W. Weincke and J. A. Burke, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 52, 1277 (1969).
90. A. S. Y. chau and W. P. Cochrane, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 5, 435 (1970).
91. J. H. Hammence, P. S. hall, and D. J. Caverley, *Analyst* 90, 649 (1965).
92. K. Noren, *Analyst* 93, 39 (1968).
93. A. S. Y. Chau and W. P. Cochrane, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 52, 1092 (1969).
94. W. P. Cochrane and A. S. Y. Chau, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 51, 1267 (1968).
95. W. W. Sans, *J. Agric. Food Chem.* 15, 192 (1967).
96. J. Singh, *Bull. Environ. Contam. toxicol*, 4, 77 (1969).
97. W. P. cochrane and A. S. Y. Chau, *Chem. Ind. (London)* 1968, 1696 (1968).
98. W. P. Cochrane, *J. Assoc. Offic. Anal. chem.* 52, 1100 (1969).
99. W. P. Cochrane, M. Forbes, and A. S. Y. Chau, *J. Assoc. Offic. anal. chem.* 53, 769 (1970).
100. B. E. Baker, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 10, 279 d(1973).
101. M. Holdrinet, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 57, 580 (1974).
102. W. P. Cochrane and R. B. maybury, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 56, 1324 (1974).
103. G. B. Collins, D. C. Holmes, and M. Wallen, *J. chromatogr.* 69, 198 (1972).
104. W. P. Cochrane and M. A. Forbes, *Methods in Residue Analysis* vol. 4 (A. S. Tahori, Ed.). Gordon and Breach, London, 1971, p. 385.

105. S. J. V. Young and J. A. burke, *Bul. Environ. Contam. Toxicol.* 7, 160 (1972).
106. I. S. Taylor and F. P. Keenan, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 53, 1293 (1970).
107. R. B. Maybury and W. P. Cochrane, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 56, 36 (1973).
108. K. E. Elgar, *Advan. Chem. Ser.* 104, 151 (1971).
109. D. W. Woodham, C. D. Loftis, and C. W. collier, *J. Agric. food chem.* 20, 163 (1973).
110. P. Lombardo, K. H. Pomerantz, and I. G. Ergy, *J. Agric. Food Chem.* 20, 1288 (1972).
111. K. A. Banks and D. D. bills, *J. Chromatogr.* 33, 450 (1968).
112. W. M. Kaufman, D. D. bills, and E. J. Hannan, *J. Agric. Food Chem.* 20, 628 (1972).
113. D. E. Glotfelty, *Anal. chem.* 44, 1250 (19k72).
114. R. G. Nash, M. L. Beall, Jr., and W. G. harris, *J. Environ. Quality* 1, 391 (1972).
115. A. S. Y. Chau and W. P. Cochrane, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 54 (1971).
116. A. S. Y. Chau, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 55, 519 (1972).
117. A. S. Y. Chau, *Bull. environ. Contam. Toxicol.* 8, 169 (1972).
118. A. S. Y. Chau and K. Terry, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 55, 1228 (1972).
119. A. S. Y. chau, *J. Assoc. Offic. anal. Chem.* 55, 1232 (1972).
120. A. S. Y. chau and K. Terry, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 57, 394 (1974).
121. A. S. Y. Chau, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 57, 584 (1974).
122. A. S. Y. Chau and M. Lanouette, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 55, 1058 (1972).
123. P. A. Grevé and S. L. Wit, *J. Argic. Food Chem.* 19, 372 (1971).

124. T. E. Archer, I. K. Nazer, and D. G. Crosby, *J. Agric. Food Chem.* 20, 954 (1972).
125. E. G. Alley, B. R. Layton, and J. P. Minyard, Jr., *J. Agric. Food Chem.* 22, 727 (1974).
126. K. V. Scherer, Jr., R. S. Lunt, III, and G. A. Ungefug, *Tetrahedron Lett.*, 1199 (1965).
127. W. L. dilling, H. P. Broendling, and E. T. McBee, *Tetrahedron* 23, 1211 (1967).
128. O. W. Berg, P. L. Diosady, and G. A. V. Rees, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 7, 338 (1972).
129. J. A. Armour, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 56, 987 (1973).
130. J. N. Huckins, J. E. Swanjson, and D. L. Stalling, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 57, 416 (1974).
131. V. Zitko, O. Hutzinger, and P. M. K. Choi, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 12, 649 (1974).
132. J. R. W. Miles, *J. Assoc. Offic. anal. Chem.* 55, 1039 (1972).
133. R. Gothe, *Bull. Environ. Contam. toxicol.* 11, 451 (1974).
134. L. E. St. John and D. J. Lisk, *J. Agric. Food Chem.* 16, 48 (1968).
135. J. Askew, J. H. Ruzicka, and B. B. Wheals, *J. Chromatogr.* 41, 180 (1969).
136. M. T. dShafik and H. F. enos, *J. Agric. Food Chem.* 17, 1186 (1969).
137. M. T. Shafik, D. Bradway, and H. F. Enos, *Bull. Environ. contam. Toxicol.* 6, 55 (1971).
138. F. H. Kawahara, *Environ. Sci. Technol.* 5, 235 (1971).
139. L. G. Johnson, *J. Assoc. kOfficd. Anal. Chem.* 56, 1503 (1973).
140. N. K. McCallum and R. J. Armstrong, *J. chromatogr.* 78, 303 (1973).
141. I. C. cohen, J. Norcup, J. H. Ruzaicka, and B. B. Wheals, *J. chroma-togr.* 49, 215 (1970).
142. J. N. Seiber, D. G. Crosby, H. Foudam and C. J. Soderquist, *J. Chroma-togr.* 73, 89 (1972).

143. J. A. coburn and A. S. Y. Chau, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 57, 1272 (1974).
144. J. Singh and M. R. Lapointe, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 57, 1285 (1974).
145. M. A. Forbes, B. P. Wilson, R. Greenhalgh, and W. P. cochrane, Bull. environ. Contam. toxicol. 13, 141 (1975).
146. J. F. Lawrence and H. A. McLeod, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 59, 639 (1976).
147. R. Greenhalgh and J. Kovacicova, J. Agric. Food chem. 23, 325 (1975).
148. J. F. Lawrence, unpublished results.
149. J. F. Lawrence and F. Iverson, J. Chromatogr. 103, 341 (1975).
150. G. Yip, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 54, 343 d(1971).
151. C. E. McKone and R. J. Hance, J. Chromatogr. 69, 393 (1972).
152. H. P. thier, Deutsche Lebens., Rundsch. 68, 397 (1972).
153. H. P. Thier, Angew. chem. 86, 244 (1974).
154. A. S. Y. chau and K. Terry. J. Assoc. Offic. anal. Chem. 59, 633 (1976).
155. W. P. cochrane and R. Greenhalgh, 166th National Meeting of the American Chemical Society, Chicago, 1973.
156. J. F. Lawrence, J. Agric. Food Chem. 22, 936 (1974).
157. E. D. Magallona, Res. Rev. 56, 1 (1975).
158. I. H. williams, Res. Rev. 38, 1 (1971).
159. W. H. Gutenmann and D. J. Lisk, J. Agric. Food Chem. 13, 48 (1965).
160. C. H. Van Middelem, T. L. Norwood, and R. E. Waites, J. Gas Chromatogr. 3, 310 (1965).
161. C. W. Stanley, J. S. Thornton, and D. B. Katague, J. Agric. Food Chem. 20, 1265 (1972).
162. C. W. Stanley and J.. S. Thornton, J. Agric. Food Chem. 20, 1269 (1972)

163. M. C. Bowman and M. Beroza, *J. Assoc. Offic. Anal. chem.* 50, 926 (1967).
164. C. A. Bache and D. J. Lisk, *J. Gas chromatogr.* 6, 301 (1968).
165. J. A. Coburn, B. D. Ripley, and A. S. Y. Chau, *J. Assoc. Offic. anal. Chem.* 59, 188 (1976).
166. A. H. Blogg and J. L. Rawls, *Amer. Lab.* 17 (Dec. 1972).
167. E. R. Holden, W. M. Jones, and M. Beroza, *J. Agric. Food chem.* 17, 56 (1969).
168. E. R. Holden, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 56, 713 (1973).
169. D. G. Crosby and J. B. Bowers, *J. Agric. Food Chem.* 16, 839 (1968).
170. R. L. Tilden and C. H. van Middlelem, *J. Agric. Food Chem.* 18, 154 (1970).
171. A. C. Moffat and E. C. Horning, *Anal. Lett.* 3, 205 (1970).
172. H. Ehrsson and H. Brotell, *Acta Pharm. Suecica* 8, 591 (1971).
173. S. C. Lau and R. L. Marxmiller, *J. Agric. Food Chem.* 18, 413 (1970).
174. J. N. Seiber, *J. Agric. Food Chem.* 20, 443 (1972).
175. L. Wong and F. M. Fisher, *J. Agric. Food Chem.* 23, 315 (1975).
176. J. J. Ryan and J. F. Lawrence, *J. Chromatogr.* 135, 117 (1977).
177. J. F. Lawrence, *J. Chromatogr.* 123, 287 (1967).
178. J. F. Lawrence and J. J. Ryan, *J. Chromatogr.* 130, 97 (1977).
179. J. F. Lawrence, D. Lewis, and H. A. McLeod, *J. Chromatogr.* 138, 143 (1977).
180. L. Fishbein and W. L. Zielinski, Jr., *J. Chromatogr.* 20, 9 (1965).
181. J. F. Lawrence, *J. Agric. Food Chem.* 24, 1236 (1976).
182. F. S. Tanaka and R. G. Wien, *J. Chromatogr.* 87, 85 (1973).
183. J. F. Lawrence and G. W. Laver, *J. Agric. Food chem.* 23, 1106 (1975).
184. J. F. Lawrence, D. Lewis, and H. A. McLeod, *J. Agric. Food Chem.* 25, 1359 (1977).

الفصل الثامن والعشرون

الطرق البولاروجرافية ، الاستقطاب ، والطرق المرتبطة بها

Polarography and Related Methods

* مقدمة Introduction :

الطرق البولاروجرافية التى اكتشفت بواسطة العالم J. Heyrovsky الحائز على جائزة نوبل أصبحت من الوسائل الهامة فى الكيمياء التحليلية والطبيعية وتحتل اليوم جانبا هاما فى البحوث الخاصة بالتحليل . من هذه الطريقة اشتقت طرق عديدة كيميائية كهربية والاجهزة الحالية أصبحت متقدمة للغاية . تستخدم طرق قياس الاستقطاب فى الكيمياء الصيدلانية والكيمياء الحيوية . اما استخدامها فى تحليل المبيدات غير شائع لذلك لن اخوض فيها بالتفصيل . طريقة البولاروجرافى كما عرضها مكتشفها تعنى الطريقة التى تستغل منحنيات التيار - الفولت الناتجة من التحليل الكهربى للمحاليل مع الكترود تنقيط الزئبق . بعض الباحث قوموا الكترودات صلبة (٤) ثابتة أو مهتزة أو دورانية ، وفى هذه الحالة تسمى الطريقة الفولتامتري Voltametric . عادة نشاط المواد الاستقطابى يبنى ويعتمد على اساس قابلية المادة للاختزال أو الاكسدة عند الكترود الكاثف بحيث يأخذ أو يفقد الالكترونات . اما تركيز المادة يمثل أو يتحصل عليه من قيمة التيار المحدود وهو بالتالى من احد وظائف او بسبب عدد من الالكترونات المشتركة فى عملية تجهيز الكترود . فى معظم الحالات التى تستخدم فيها القياسات البولاروجرافية فان إنتقال الكتلة للمادة محل التقدير يتوقف على أو يتحكم فيها بواسطة الانتشار من الكتلة تجاه الكترود الزئبقى النامى . ومن ثم تجهيز الكترود يمكنه ان يعتمد من خلال الامصاص أو أى تفاعلات كيميائية . اما فى حالة الكترود الصلب الدوار يتوقف انتقال الكتلة ويتأثر بالتوصيل . التقدير وحساب تركيز المواد بطرق الاستقطاب البولاروجرافية أو الفولتامتري تجرى بمساعدة قياسية المحاليل القياسية . التيار المتحكم فى إنتشاره المحدود Id فى البولاروجرافى ذو التيار المتقطع dc يمكن الحصول عليه من معادلة Ickovid حيث :

$$Id. = 10^{-3} \times 0.627 \text{ nfm } 2/3t \text{ } 1/6 D \text{ } 1/2 C$$

حيث ان n = عدد الالكترونات التى تتبادل بين الجسيمات النشطة كهريا والكترود ، F = ثابت فارادى (٢٩٦,٥٠٠) ، m = سرعة الانسياب الخارج للزئبق من الكترود الشعري ، t = الوقت المستقطع بالثوانى ، D = معامل الانتشار ، c = تركيز المادة (مول/لتر) .

K. G. Das
national Chemical laboratory
Poona, India.

التقديرات الرصفية تعتمد على نصف الجهد $E/2$ (في منحنيات البولاروجرافي I-E) وكذلك قيمة الجهد E_p التي يتحصل عليها من الالكترونات الثابتة . هذه القيم تعتبر من الخصائص المميزة للمركب . الطرق البولاروجرافية الفولتامترية يمكن ان تستخدم لدراسة التركيب والثبات والثواب . يستخدم البولاروجرافي المستمر التيار في تقدير المركبات العضوية .

* ظروف التقدير البولاروجرافي والفولتا مترى Conditions :

يمثل اجراء هذه التقديرات لابد من وجود مجموعة مختزلة أو مؤكسدة في المركب من المجاميع الفعالة في المبيدات التي تخلل بطريقة البولاروجرافي موجودة في الجدول التالي (١) وهناك قواعد عامة يمكن ان تشير اليها مثل : الرابطة الفردية ك - ك ن لا تعطى استجابة متماثلة عند كل مرة تقدير في نطاق الجهد الحادث عن الكثرود الزئبق . هناك استثناء من هذه القاعدة رابطة ك - ك ن . اذا نشطت بمجموعة جاذبة للالكترونات مثل ٤ - سيانويبريدين او ١, ٢ - داي سيانو بنزين . هذا قد يؤدي الى فصل ٢ الكثرود من الرابطة معطية (ك ن-) او تكوين - ك يد ٢ ن يد٢ . هذا السلوك يعتمد على قابلية البروتون في المحلول القاعدي . الرابطة الزوجية ك = ك لا تختزل في نطاق الجهد عند الكثرودات الزئبق ولكن الاختزال يحدث اسهل بالتفاعل مع مواد جاذبة للالكترونات . الكينونات تختزل أكثر عند الجهد السالب بدرجة تفوق الالدهيدات تحول مجموعة الامينو في الوضع « ألفا » يسهل الاختزال وعندما تحول مجموعة الايدروكسيل تسبق مقدرتها الاختزالية واختزال مجموعة الكربونيل ونفس الشيء يحدث مع الثيونات .

مجموعة النيترو المرتبطة غالبا بحلقة عطرية تختزل في اربع خطوات معطية فينيل هيدروكسيل امين وفي النهاية مجموعة امين من الصورة البروتونية . مجموعة ك = ن من اكثر المجاميع في التحليل البولاروجرافي .

في تحليل المبيدات بالطرق البولاروجرافية نادرا ما يشار الى استخدام الالكترونات الصلبة . من اهم العوامل المحددة ظهور موجات انودية بسبب التفرق الانودي لأيونات الزئبق في المحلول المختري على مواد تتفاعل معها لتكوين املاح غير ذائبة او معقدات او غير مرتبطة . هذه هي الحالة مع الكلوريدات او البروميدات في الكيمياء الغير عضوية خاصة مع المواد التي تحتوى على مجموعة الفيدرين وهذه شائعة في تركيب المبيدات .

جدول (١) : أمثلة للمجموعات النشطة الحساسة للكشف البولاروجرافي في البليات .

Reversible group	Assumed mechanism	Example
1, 4 Benzoquinones	$R + 2e + 2H^+ \rightarrow RH_2$	Spergon
Irreversible		
-C=C-	$+ e + H^+ \rightarrow RH$	Potasan
Activated	dimer formation	
C-X	$RX + 2e + 2H^+ \rightarrow RH_2$	DDT, hexachlorohexane, and
related compounds		
;C-NO ₂	$RNO_2 + 4e + 4H^+ \rightarrow R.NHOH$	Parathion
-C=N-	$+ 2e + 2H^+ \rightarrow CH-NH$	Guthion
Mostly in a heterocyclic ring		
R-S-S-R	$+ 2e + 2H^+ \rightarrow 2R-SH$	Tetramethylthiuramdisulfide
R-SH	$+ Hg \rightarrow RSHg + e + H^+$	Ethylenebisthiocarbamate

* الطرق البولاروجرافية الغير مباشرة :

بالرغم من مميزات هذا التكنيك الا انه غير شائع لأن جزء من المركبات العضوية فقط ذات نشاط استقطاب وهذا يفسر سبب استخدام البولاروجرافى الغير مباشر . اذا استبعدنا ما يسمى بالطرق الامبيرومترية يمكن تقسيم هذه الطرق الى اربعة طرق تستخدم فى تحليل المبيدات والكشف عليها :

١ - ادخال مجموعة بولاروجرافية او فولتامترية فى الجزيء ويطلق عليها Functionalization مثل مجموعة النيترو .

٢ - اكسدة المادة محل التقدير والكشف عن ناتج التأكسد .

٣ - تفاعل المركب مع جوهـر كشاف الذى يتحول الى مركب نشط بولاروجرافيا .

٤ - الاستفادة من الفصل المساعد للايونات الايدروجينية المختزلة الناتجة من المادة محل التقدير .

الجدول (٢) يوضح امثلة للتفاعلات المستخدمة فى البولاروجرافى الغير مباشرة الخاص بمبيدات الافات تشمل التثيرة وادخال مجموعة النيتروزو والتحليل المائى القلوى والتفاعل مع جواهر كشافة تعطى مركب نشط الكترونيا كما فى الـ ورفارين او وقت التفاعل الانزيمى .

جدول (٢) : تفاعلات التقديرات البولاروجرافية الغير مباشرة للمبيدات

A. Nitration		
Carbaryl	CARBARYL	- NO ₂
B. Nitrosation		
Carbaryl		- NO ₂
C. Alkaline hydrolysis		
Malathion	OH- sodium fumarate	
Dalapon	CH ₃ -CCl ₂ -COONa	→ CH ₃ COCOONa
		sodium pyruvate
D. Reaction with a reagent giving rise to an electroactive product		
Warfarin + I ₂ → iodoform		
E. Blocking of an enzymatic reaction		
Maltathion (organophosphate insecticide) inhibits the serum esterase influence on		
a-Naphthylacetate → B-naphthol		
↓ nitrosation		
polarographic determination		

* الاجهزة والمذيبات : Instrumentation and Solvents

فى ١٠ سنوات مضت كانت القياسات البولاروجرافية تجرى باجهزة الإستقطاب التجارية ذات التيار المتقطع de polarographs حيث كانت تستخدم وتعتمد على ٢ الكترود بالإضافة الى ذلك كانت توجد اجهزة اخرى للإستقطاب Oscillo polarographs والعديد من البولاروجرافى وحيدة الالكترود single sweep . لقد تركزت البحوث فى هذا المجال فى البحث عن اجهزة سهلة وبسيطة يمكن للباحث ان يكونها فى المعمل . اما الآن اختفت هذه الاجتهادات تماما حيث طورت اجهزة تسجل البولاروجرام المتقطع dc مع ٣ نظم للإلكترود فيما يعرف بالاستقطاب المستمر ac والفولتاموجرام مع معدلات رصد مختلفة والفولتاموجرام الحلقى cyclic وبالطبع هناك انواع عديدة من الالكترودات الكشافه ... كما قلت سابقا لن اخوض فى التفصيلات لأننى غير متقن لها .

من الامور المحددة لنجاح التقدير بطرق الاستقطاب هو اختيار المذيب المناسب حيث ان معظم المبيدات لا تذيب فى الماء او تذيب بدرجة بسيطة فى الماء ولهذا السبب يجب استخدام مذيب غير مائى مثل ن ر ن - دايمثيل فورماميد او الايثانول . هناك احتمالات الاول يتمثل فى العمل فى غياب الماء تحت ظروف aprotic مع وجود ملح التترا الكيل أمونيوم او الليثيوم كوسط الكتروليتى مدعم او مخلوط من الماء ومذيب مساعد بتركيز عالى بما يكفى لاذابة المادة محل التقدير . هناك صعوبات كبيرة فى حالة استعمال الاوساط المائية ، اما المذيبات اللامائية بها عيوب كثيرة ايضا من اهمها ضعف التوصيل الكهربى فى المحلول الناتج كما تتطلب العمل بدوائر بها ٣ الكترود . فى الاستقطاب العادى بالنبضات pulse نحتاج لتركيزات بسيطة من الوسط الالكتروليتى المدعم .

* مشاكل الفصل والمعاملات المسبقة للقياسية

Separation problems and pretreatment of sample

لا جدال فى أن تقدير المواد النقية من السهولة بمكان اما الصعوبات تحدث عند تقدير مخلوط من مبيدين او اكثر او وجود مخلفات المبيدات فى مواد بيولوجية . تتألى المشاكل من احتمالات حدوث تداخل من المواد الحيوية مثل البروتينات التى تساعد فى اختزال الايدروجين والفيتامينات خاصة تلك التى لها نشاط كهبرى مثل ن ٢ ، ن ٦ ، ج ، ك أو الالكالويدز التى تساعد على إنطلاق الايدروجين والسكريات التى تعطى موجات سالبة وقليلة وحركية وربما الكلوروفيل . يمكن فصل المركبين والكشف عنهما اذا كان نصف موجة الجهد $E_{1/2}$ لهما يختلفان باكثر من ١٠٠ ملليفولت فى البولاروجرافى المتقطع . اذا لم يكن ذلك متاحا تجرى معاملات قبل التقدير مثل استخلاص المادة من العينة بواسطة مذيب عضوى ويتبع الاستخلاص تنقية المستخلص . الآن يعتبر الفصل بالـ TLC أو HPLC متبوعا بالقياس باجهزة الاستقطاب شائعا فى الادوية ولكنه لم يجد طريقه بالشكل الكبير مع المبيدات .

جدول (٣) : نصف الجهد المرجعي لبعض المبيدات الحشرية على مجموعة التيرد .

Substance	0.1 N HNO ₃	0.1 N acetate buffer	0.1 N ammonia/ ammonium chloride	0.1 N NaOH
1 - Nitro-2,3,5,6-tetrachlorobenzene (Tecnazine)	-0.18	-0.58	-0.70	-0.81
1 - Nitro-2,3,5,6-pentachlorobenzene (Brassicol)	-0.17	-0.51	-0.71	-0.90
1-Thiocyano-2,4-dinitrobenzene (Nirit)	-0.05, -0.31	-0.26, -0.67	-0.43, -0.83	---
Crotonic acid ester of 2-4-dinitro-6-sec-octylphenol (Karathane)	-0.12, -0.31	-0.39, -0.67	-0.52, (-0.78)	-1.08 (-1.56)
1,3,5-trichloro-2, 4-dinitrobenzene (Brassisan)	-0.05, -0.33	-0.29, -0.72	-0.41, -0.85	---
1,3,5-Trichloro-2,4,6-trinitrobenzene (bulbosan)	-0.10, (-0.35)	-0.18, -0.72	---	-1.30
Parathion	-0.26, (-0.86)	-0.62 0.62	0.74	-0.80, (-1.26)

Substance	O.1 N ammoniac/			
	0.1 N HNO ₃	0.1 N acetate buffer	ammonium chloride	0.1 N NaOH
Chlorthion	-0.20	-0.56	-0.72	---
Isochlorthion	-0.20	-0.55	-0.64	-0.80
p-Nitrophenol	-0.09 , (-.98)	-0.84	-1.02	-0.80 , -1.34

جدول (٤) : نصف التجهد الموجي لبعض كاتيونات البيريدينوم الرباعية

	pH	E1/2 (vs. SCE)
Parquat	8.3	-0.69 V
Diquat		-0.61 V
Morfamquat		-0.54 V

لست في مجال سرد امثلة لتقدير المبيدات بالطرق البولاروجرافية .. على من يريد مزيد من المعلومات ان يرجع الى القائمة الموجودة في هذا الجزء بالاضافة الى اربعة مراجع هامة جدا للكشف عن المبيدات المحتوية على الثيويوريا والباراثيون والمبيدات المحتوية على النيترو وكذلك مركبات اكسيد الفينيل ارسين والباراكوات في البول وسيرم الدم .

1. Thiourea-containing pesticides: M. R. Smyth and J. G. Osteryoung, anal. Chem. 49, 2310 (1977). In 0.1 M NaOH the lower concentration limit lies in the region of 10^{-7} M concentrations. With cathodic stripping voltammetry at a HMDE concentrations down to $1 \mu\text{g ml}^{-1}$ can be determined.
2. Parathion and other nitro-containing pesticides: M. R. Smyth and J. G. Osteryoung, Anal. Chím. Acta 96, 335 (1978). These substances can be determined down to 10^{-8} M. In acid solution parathion can be differentiated from p-nitrophenol. An indirect determination of parathion in presence of paraoxon is based on their respective reates of hydrolysis in 0.5 M NaOH.
3. Phenylarsine oxide: J. H. Lowry, R. B. Smart, and K. H. Maney; anal. Chem. 50, 1303 (1978). the detection limit is 10^{-8} M at pH 7.3 in aqueous solutions.
4. Paraquat in urine and serum: G. Franke, W. Pietrulla, and k. Preussner, Fresenius Z. Anal. Chem. 298, 38 (1979). In a $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer the lower detection limit is about $0.05 \mu\text{g/ml}$ (i.e., $5 \cdot 10^{-6}$ M). The determination is direct; for urine pH 7 and for human serum pH $6.5\text{-}8$ are recommended.

References

1. J. Heyrovsky' and J. Kuta, Principles of Polarography. Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague, 1965.
2. M. Brezina and P. Zuman, Polarography in Medicine, Biochemistry and Pharmacy. Interscience, New York, 1958.
3. P. Nangniot, La polarographie en agronomie et en biologie. J. Ducleot, Gembloux, 1970.
4. R. N. Adams, Electrochemistry at Solid Electrodes. Marcel Dekker, New York, 1969.
5. L. Meites, Polarographic Techniques, 2nd ed. interscience, New York, 1965.

6. prospectus, Tokai Electrode Mfg. Co., Ltd., Tokyo, Japan.
7. D. T. Sawyer and J. L. Roberts, Jr., *Experimental Electrochemistry for Chemists*. Wiley, New York, 1974.
8. F. Vydra, K. Stulik, and E. Juláková, *Electrochemical Stripping Analysis*. Ellis Horwood, Ltd., Chichester, 1976.
9. Z. Galus, *Fundamentals of Electrochemical Analysis*. Ellis Horwood, Ltd., Chichester, 1977.
10. Prospectus, Princeton Applied Research, Inc., Princeton, N. J.
11. F. Opekar and P. Beran, *J. electroanal. Chem.* 69, 1 (1976).
12. J. Volke and A. M. Kardos, *Coll. Czech. Chem. Commun.* 38, 2560 (1968).
13. Yu. Kargin, O. Manousek, and P. Zuman, *J. Electroanal. Chem.* 12, 443 (1966).
14. P. Zuman, D. Barnes, and A. Ryvolová-kejharová, *Discussions Faraday Soc.* 45, 202 (1968).
15. M. R. Rifi, in *Organic Electrochemistry* (M. M. Baizer, Ed.). Marcel Dekker, New York, 1973, p. 279.
16. L. Ebersson, in *Organic Electrochemistry* (M. M. Baizer, Ed.). Marcel Dekker, New York, 1973, p. 413.
17. H. Lund, in *Organic Electrochemistry* (M. M. Baizer, Ed.). Marcel Dekker, New York, 1973 p. 315.
18. J. Volke, *Talanta* 12, 1081 (1965).
19. J. Volke, in *Physical Methods in Heterocyclic Chemistry*, Vol. 1, (A. R. Katritzky, Ed.). Academic Press, New York, 1963, p. 317.
20. M. Brezina and J. Volke, in *Polarography in Biochemistry, Pharmacology and Toxicology, Progress in Medicinal Chemistry*, Vol. 12 (G. P. Ellis and G. B. West, Eds.). North-Holland, Amsterdam, 1975. p. 247.
21. H. Hoffmann and J. Volke, in *Electroanalytical Chemistry* (H. W. Nürnberg, Ed.). Wiley, London, 1974, p. 287.
22. R. Engst, W. Schnack, and H. Woggon, *Z. Anal. Chem.* 207, 30 (1965).
23. R. J. Gajan, W. R. Benson, and J. M. Finocchiaro, *J. Assoc. Offic. Agric. Chem.* 48, 958 (1965).

24. K. Dulak, J. Kovác, and M. Michalek, *Z. Anal. Chem.* 195, 350 (1963).
25. S. Wawzonek, and T. W. McIntyre, *J. electroanal. Chem.* 12, 544 (1966).
26. J. Kovác, *Chem. Zvesti* 8, 342 (1954).
27. J. Seifert and J. Davidek, *Z. Lebensmittel-Untersuchung* 146, 17 (1971).
28. H. Lund, *Acta Chim. Scand.* 12, 1444 (1958).
29. P. Nangniot and N. Melarned, *Chim. Anal.* 40, 3 (1958).
30. P. Nangniot, *Anal. Chim. Acta* 31, 166 d (1966).
31. H. Sohr, *Chem. Zvesti* 16, 316 (1962).
32. R. Kalvoda, *Techniques of Oscillographic Polarography*, 2nd ed., Elsevier, Amsterdam-SNTL, Prague, 1965.
33. P. Nangniot, *La polarographie en agronomie et en biologie*, J. Duculot, Gembloux, 1970, p. 287.
34. Z. Galus, in *Reviews on Analytical Chemistry (Euroanalysis Conference II)* (W. Fresenius, Ed.). Akadémiai Kiadó, Budapest, 1977, p. 53.
35. G. Dragt, *Anal. Chem.* 20, 737 (1948).
36. D. Monnier, L. Roesgen, and R. Monnier, *Anal. Chim. Acta* 4, 309 (1950).
37. L. Contier, H. André, and J. Prat, *Chim. anal.* 31, 201 (1949).
38. H. Keller, M. Hochweberd, and H. v. Halban, *Helv. Chim. Acta* 29, 761 (1946).
39. J. Davidek and G. Janicek, *Experientia* 17, 473 (1961).
40. R. J. Gajan and J. Link, *J. Assoc. Offic. Agric. Chem.* 47, 1119 (1964).
41. K. Neuhaus, *Chem. z.* 80, 861 (1956).
42. O. A. Swanepoel, *J. South-African Chem. Inst.* 15, 88 (1962).
43. M. H. Hayes, M. Stacey, and J. M. Thompson, *Chem. and Ind.* 1222 (1967).
44. D. E. Ott, F. E. Hearsh, and F. A. Gunther, *Bull. Environ. contam. Toxicol.* 1, 181 (1966).

45. D. K. Gullstrom and H. P. Burchfield, *Anal. Chem.* 20, 1174 (1948).
46. A. K. Klein and R. J. Gajan, *J. Assoc. Offic. Agric. Chem.* 44, 712 (1961).
47. J. Vogel and J. Deshusses, *Mitt. Ges. Lebensmittel Hygien.* 55, 151 (1964).
48. N. C. Bowen and F. F. Edwards, *Anal. Chem.* 22, 706 (1950).
49. E. Sandi, *Nature* 181, 499 (1958).
50. D. E. Ott and F. A. Gunther, *Analyst* 87, 70 (1962).
51. F. E. Hearsh, D. E. Ott, and F. A. Gunther, *J. Assoc. Offic. anal. Chem.* 51, 690 (1968).
52. P. Nangniot, *La polarographie en agronomie et en biologie*, J. Duculot, Gembloux, 1970, p. 270.
53. P. Nangniot, *La polarographie en agronomie et en biologie*, J. Duculot, Gembloux, 1970, p. 259.
54. J. Kovác, *Chem. Zvesti* 8, 272 (1954).
55. W. H. Jura, *Anal. Chem.* 27, 525 (1955).
56. F. Tafuri, *Ric. Sci.* 32, Ser. 2, II-B, p. 60 (1962).
57. H. Woggon, H. Ackermann, and D. Spranger, *Z. Anal. Chem.* 211, 113 (1965).
58. J. Volke and V. volková, *Coll. Czech. Chem. Commun.* 34, 2037 (1969).
59. J. Volke, *Coll. Czech. Chem. Commun.* 33, 3044 (1968).
60. L. Pospisil, J. Kuta, and J. Volke, *J. Electroanal. Chem.* 58, 217 (1975).
61. J. Volke and O. Manousek, unpublished results.
62. P. Nangniot, *La polarographie en agronomie et en biologie*, J. Duculot, Gembloux, 1970, p. 241.

* * الفصل والتقدير بالكروماتوجرافى :

اصبح الفصل الكروماتوجرافى ذو اهمية كبيرة فى تحليل المبيدات والكشف عن المخلفات مهما كانت قيمتها حتى المتناهية فى الصغر بسبب سرعة العمل بها ودقتها وصلاحياتها لجميع انواع المبيدات وغيرها من الكيمائيات والتطور المذهل الذى يحدث فى اجهزتها ووسائل تطبيقها كما انها تفيد فى عمليات تنظيف العينات . بالرغم من التقدم المذهل فى انواع واساليب الكروماتوجرافى تظل الاساسيات هى الاساسيات ، على كل مشتغل فى هذا المجال ان يكون على دراية تامة بالاصطلاحات والاسس العلمية لذلك كان ضروريا ان نشير الى هذه المصطلحات والتي وجدتها مجمعة فى مذكرة تدريسية منذ عام ١٩٧١ لاستاذى العظيم رحمه الله المرحوم د . د . جمال طنطاوى ، استاذ المبيدات بكلية الزراعة جامعة الاسكندرية حيث كان لى شرف المنهل من علم استاذنى فى قسم وقاية النبات العريق بهذه الكلية العريقة .

١ - التحليل الكروماتوجرافى Chromatography :

يعنى فصل المركب المراد الكشف عنه من غيره من المركبات والشوائب بحيث تظهر المركبات فى مواضع مختلفة على خريطة الفصل او ما يعرف بالكروماتوجرام بصرف النظر عن القوى التي تحكم عملية الفصل . التحليل الكروماتوجرافى لا يحدد نوع المركب المفصول فقط ولكن تركيزه كذلك ويمكن التأكد من نتيجة الفصل من خلال المركبات القياسية Standards .

٢ - التحليل الكروماتوجرافى بالورق Paper chromatography :

يستخدم فيها ورق ترشيح بمواصفات خاصة اى ذو حساسية معينة لفصل المركب عما يوجد معه من شوائب او مركبات اخرى حيث تستغل خاصية اختلاف الوزن الجزيئى وذوبانية المركبات فى الفصل بينهما حيث يتحرك كل مركب لمسافة معينة على الورقة بالنسبة للمركب القياسى .

٣ - التحليل الكروماتوجرافى باعمدة الادمصاص

: Adsorption chromatography

حيث يستخدم اعمدة بها مواد ذات قدرة ادمصاصية اما على مسك المبيد او مسك الشوائب وترك المبيد ينزاح على مذيب عضوى او مخلوط من عدة مذيبات ثم التقدير . تفيد هذه الطريقة فى تنقية العينات والفصل النوعى والكمى للمبيدات .

٤ - التحليل الكروماتوجرافى عن طريق تبادل الايونات Ion exchange :

هى طريقة فعالة لا تستخدم بكثرة فى مجال الكشف عن مخلفات المبيدات حيث تستخدم مواد راتنجية ذات طبيعة ومقدرة خاصة على تبادل الايونات وهى تقارب لحد كبير اعمدة الادمصاص وهى شائعة فى فصل الاحماض الامينية وغيرها .

٥ - التحليل الكروماتوجرافى الغازى Gas chromatography :

من اكثر الطرق شيوعا للكشف عن مخلفات المبيدات واختبارات الجودة بسبب سرعتها وحساسيتها الفائقة حيث تعرض المادة المراد تقديرها لدرجة حرارة عالية فى قالب الحقن بحيث لا تتكسر ولكنها تتحول الى الصورة الغازية التى تحمل مع الغاز الحامل وهو خامل مثل النيتروجين او الهيليوم وتخرج الى فتحة العمود الموجود به مادة ادمصاص معينة حسب نوع المركب وطبيعته بحيث يتم توزيع المركب بين الطور المتحرك (الغاز) والثابت اى مادة الادمصااص ومنها الى الكشف الحرارى باللهب او صائد الالكترونات وغيرها حيث يتم الكشف عنها ثم ترسل اشارة الى وحدة المسجل حيث يتم التعبير عنها فى صورة منحنيات .

٦ - المذيب Solvent :

من اهم العوامل التى تتحدد سلامة ودقة وصلاحية الفصل وقد يستخدم مذيب واحد او مخلوط من اكثر من مذيب وعدم التوفيق فى الاختيار يؤدى الى نقص معدل الاسترجاع وكفاءة العملية والبعض يطلق على المذيب الاصطلاح الناشر Developer .

٧ - نظام المذيبات Solvent system :

يعنى مخلوط المذيبات ونسب مكوناته والاجتهاد مطلوب فى هذا الخصوص بشرط التجريب والاحتكام لمعدلات الاسترجاع من الوسط .

٨ - الصورة او الوسط الثابت Stationary phase :

تمثل طبقة السليكا جيل فى الفصل الكروماتوجرافى بالالواح TLC او مادة العمود فى الفصل الكروماتوجرافى الغازى وغيره او ورقة الترشيح فى الكروماتوجرافى الورقى ويؤدى عدم التوفيق فى اختيار المادة الى نقص كفاءة التحليل والفصل بدرجة شديدة .

٩ - الصورة المتحركة Mobile phase :

تمثل المذيب فى الفصل بالسوائل او بالورق او بالاعمدة الكروماتوجرافية او الغاز الخامل فى الكروماتوجرافى الغازى ولا بد ان تكون درجة النقاوة عالية جدا منعا لتداخل الشوائب مع المبيد .

١٠ - الكروماتوجرافى المعكوس Reversed/Inverted Chromatography :

حيث تكون الصورة معكوسة عن المؤلف بمعنى ان تكون الصورة الثابتة محبة للدهون والمتحركة محبة للماء كما فى حالة الفصل المستخدم فيها ورق الترشيح المضاف له مجموعة خللات ويسمى Acetylated paper .

١١- عملية الفصل الكروماتوجرافي Development :

اى فصل المبيد من الشوائب او المبيدات الاخرى باى من الطرق الكروماتوجرافية السابقة تحت الظروف القياسية لكل مركب او مجموعة من المركبات ولكن معلوما ان اهمال شروط اى عامل يؤدي الى فشل الفصل .

١٢ - كايينة الفصل Development vessel :

يطلق عليها حجرة الفصل والتي يجب تهيئتها قبل عملية الفصل والتأكد من وصولها لحالة الاتزان والتشبع فى بعض الاحيان حتى يكون الفصل تاما وسليماً لأن اى تسريب يعنى عدم اتزان يؤدي لفشل ذريع . يجب أن تصنع من مواد لا تصدأ ولا تتفاعل مع نظم المذيبات .

١٣ - خط حدود المذيب Solvent front :

الخط الذى يصل اليه المذيب فى الفصل الكروماتوجرافي الورقى او الاالواح المغطاة TLC وعدم الدقة فى تحديده يؤدي الى الحصول على قيم انسياب RF خاطئة ومن ثم تعريف خاطئ ومشاكل لا حصر لها . هناك خط المذيب الخاص بالمركب اى المسافة التى تحركها بالمذيب .

١٤ - قيمة معدل الانسياب RF :

هى النسبة بين المسافة التى تحرك فيها المركب الى المسافة التى تحركها المذيب ، خط الحدود ، وترجمة الاصطلاح معدل الانسياب "Rate of flow" .

١٥ - HRF value :

هى قيمة نسبية تماثل ١٠٠ ضعف قيمة معدل الانسياب RF وهى تستخدم فى كروماتوجرافى الألواح .

١٦ - Rst Value :

تمثل النسبة بين مسافة حركة المادة بالنسبة لمسافة حركة المادة القياسية وهى معيار هام وفعال يمكن من خلاله التغلب على الاختلاف فى ظروف الفصل .

١٧ - التدرج Gradient :

تعنى التغير المستمر لعامل او عدة عوامل من تلك التى تؤثر على نسبة معدل الانسياب (فى اتجاه واحد) مثل تغير المذيب وتأثير الحموضة أو الحرارة ... الخ .

١٨ - الكشف Defection :

يعنى اظهار المركب بعد الفصل او تقديره مثل تكوين البقع او اظهارها بالاشعة فوق البنفسجية او تقديرها بالكاشفات الماصة للهلب او مصائد الالكترونات .

١٩ - الكروماتوجراف المرشد Guide chromatogram :

هو جزء من الكروماتوجرام (منحنيات الفصل) يستخدم لتحديد مكان البقع التى لم تلون او تظهر وهو يستخدم فى الكروماتوجرافى الورقى واللوحى .

٢٠ - كروماتوجرام الشرائح Strip chromatogram :

يمكن فصل المركب من الشوائب او من المركبات الاخرى باستخدام شرائط من ورق الترشيح ذات عرض معين ويكون الفصل من اعلى لأسفل descending .

٢١ - كروماتوجرام الخطوط أو المناطق Stream chromatogram :

هى الكروماتوجرامات التى تظهر على مسافة من خط البداية فى صورة مناطق او حزم مفصولة عن بعضها كما فى الفصل الالكتروفرورسير .

٢٢ - فترة الاتزان بالتشبع Equilibration saturation period :

تهيئة كايينة الفصل بوضع المذيب فيها واحكام غلقها حتى يحدث التشبع وهى فى غاية الاهمية لان عدم التشبع او الاتزان يؤدى الى خلل الفصل .

٢٣ - فترة الفصل الكروماتوجرافى Development time :

يسمى ايضا فترة إجراء العملية Running time ولا يشمل فترة الاتزان ولكنها الفترة من بدء عملية الفصل حتى نزع الكروماتوجرام للتجفيف والكشف :

٢٤ - المواد القياسية Reference standards :

هى المواد القياسية التى يجب الحصول عليها من مصدر موثوق فيه كما تكون مخزنة تحت ظروف قياسية وتخبر قبل العمل بها منعا لأية شكوك ومنها :

(أ) مواد قياسية للفصل الكمى .

(ب) مواد تجارية للتعرف على البقع .

(ج) مادة معينة لتقدير معيار "Rst" قد شاع فى الوقت الحالى الاعتماد على المواد القياسية الداخلية Internal standard حيث تخلط مع العينة محل التقدير للتأكد من سلامة الفصل وتنسب الى المادة الاصلية ويكون المعيار الكمى هو النسبة بينها وبين مادة التقدير .

الفصل التاسع والعشرون

طرق عامة لتعريف مخلفات المبيدات في عينات غير معلومة المصدر (الاصل)

General approaches to the identification of pesticide residues in samples of unknown origin

يتطلب التحكم الشديد فى مخلفات مبيدات الآفات فى العينات مجهولة الاصل خبرات فائقة فى التحليل والكفاءة . نظرا لوجود عدد كبير جدا من المواد الفعالة فى الاسواق فمن الضروري توجيه التحليل لتقدير مخلفات المبيدات المؤكد وجودها او المشكوك فى تواجدها فى المواد الغذائية . هناك الحاجة للتعاون الدولى فى مجال المعلومات الخاصة بمخلفات المبيدات فى السلع التجارية وهذا يستدعى توفر طرق للكشف عن العديد من المخلفات تمتاز بالتخصص بالاضافة لطرق الغرلة البسيطة .

مقدمة Introduction :

من النادر عدم معرفة بلد المنشأ لأي سلعة متوفرة تجاريا على المستوى العالمى ومن الممكن ان يكون المنتج مجهول الهوية . قد تتواجد مواد غذائية مصنعة ومخلوطة دون اية معلومات عن المبيدات المستخدمة والمواد الخام . فى العادة تقع مشاكل التحليل الخاصة بمخلفات المبيدات فى مجموعتين بناء على تبعيتها للسلع المحلية أو المستوردة . فى حالة العينات المحلية فانه عادة وبدون معنى توجه كافة الجهود تجاه المبيدات المعروف صلاحية او القيود على استخدامها . تعتبر سجلات المبيعات كوثائق هامة فى تحديد شيوخ مبيدات الآفات . بالنسبة للسلع الغذائية المستوردة تكون المعلومات المتوفرة عن استخدام مبيدات الآفات نادرة بالرغم من توفر قوائم للمبيدات المسجلة فى مناطق الانتاج بشكل عادى وروتينى . نقرر حقيقة أن اية معلومات متاحة عن تاريخ العينات سوف تقلل من عدد مرات التحليل المطلوب. فى الوقت الحالى فان البيانات التى تساعد فى اختبار المخلفات التى يشملها التحليل يمكن الحصول عليها من سلسلة الدوريات المعروفة " Good agricultural practice" التى تعدها الحكومة الكندية من خلال قائمة الحدود القصوى للمخلفات MRL's الموصى بها من قبل هيئات CC/PR وكذلك من نشرات سلسلة Evalua- tion of pesticide residues in Food لهيئة دستور مخلفات المبيدات .

الكم الضخم من بيانات التحليل التى جمعت من معمل الخدمات تمثل عصب الجدول رقم (١) موضحا السلع الغذائية الشائعة ومخلفات المبيدات فيها . هناك ضرورة لجدول مقارنة تحتوى على العديد من التفاصيل للتخطيط لتحليل المخلفات ، هذه الاحصائيات لا تؤكد اى شئ عن تحليل المخلفات الاخرى . تعتمد طرق التحليل التى ستتبع على الاجهزة والامكانيات المتوفرة وكذلك على نوع السلعة الغذائية والمركبات مجال التحليل . فى حالة عدم توفر الاجهزة المتطورة والغالية السعر يجب اللجوء الى الطرق البسيطة قليلة التكلفة وتطويرها لتقدير مخلفات المبيدات بنجاح . ولقد نشر الباحث Batora ومعاونوه تجميعه لطرق التحليل البسيطة للمخلفات .

جدول (١) : بعض السلع الغذائية ومخلفات البيدات في النطاق التجارى .

++ = مخلفات غالبا موجودة بكميات عالية

+ = مخلفات غالبا موجودة

(-) = مخلفات موجودة بصورة مرضية .

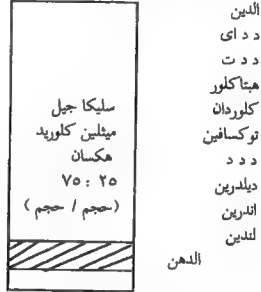
	benzoyl	EOC ^a	ether fungicides	OC ^a compounds	OP ^b compounds	ether insecticides	brexline	ethers
carrot	+	+	+	+	+	+	-	tecnazone
red beet	-	-	-	-	+	+	-	-
celery cabbage	+	+	+	+	+	+	++	
lettuce	+	++	+	+	+	+	++	
cabbage	-	+	-	-	-	-	-	
cauliflower	-	+	+	+	+	+	+	
peas	-	-	-	-	-	-	+	
cucumber	-	++	+	+	+	+	+	
tomatoe	=	++	+	+	+	+	++	
red pepper	=	++	+	+	+	+	+	
citrus fruits	++	-	+	+	++	+	+	} thibendazole biphonyl o-phenylphenole thiabendazole
apples	++	++	+	+	++	-	-	
pear	++	++	+	+	+	-	-	
banana(pulp)	+	+	-	-	-	-	-	
wine grapes	++	+	+	+	+	+	+	
apricot	-	++	-	-	+	-	+	
cherry	+	+	+	+	-	-	++	
plum	++	+	+	+	+	-	-	
strawberry	+	+	-	+	-	-	-	
fish(wild)	-	-	-	++	-	-	-	
cereals	-	-	-	-	+	-	+	chlormequat
dried fruits	-	-	-	-	-	-	++	
nuts	-	-	-	-	-	-	++	

a) OC = organochlorine

b) OP = organophosphorus

من الشات ان العئءء من مءءءاء الآقاء ىمكن الكشف عنها عن طرىق الـ (TLC) باسءءءام الطرىق الملموءة للممءلفاء المءءءءة . من الممكن ءقءءر المءءءاء الكلورىءىة والفوسفورىة والكارباماء والءراءىزناء . البقعءءةءة للمركباء ىمكن اءءهارها بالاشعة فوق البنفسجىة (UV) باسءءءام الالواح الفلورىسءىىة بمساءءة الجواهر الكشافة الملموءة .

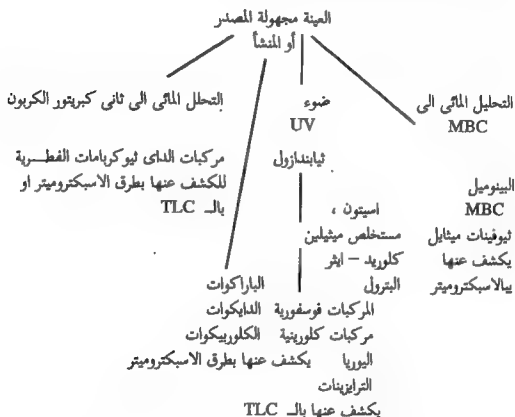
الشكل (١) ىوضء ءقءءر المركباء الكلورىءىة فى ءهن الءىواءاء بطرىقة الـ TLC . ولءء اءرى الإسءءلاص بطرىقة الـ FDA .



شكل (١) : ءقءءر المءءءاء الكلورىءىة فى كبء السمك بطرىقة الـ TLC .

طرىقة الكروماءوءءرافى ذو الالواح الرقىقة اسءءءم كطرىقة سرىة للفرءلة بىن المركباء ضماءا لءءم ءضىىع الوءء والاسءءءاك الغرب واعى للاءءءة عالىة الءءور . ىسءطىع القاءم بعملىة الءءلل المءمرس ءءءقق نءاءء نصف كمىة ءءمىز بالءقة الكافىة باسءءءام المءالل القىاسىة للمركباء القىاسىة ىمكن على ضوءها ءءءءء ما اذا كان ءء الامان اكءر من المسموء به او هناك ءاءة لءءلللاء مءءءة . بالاضافة لطرىق الـ TLC ءوءء طرىق اءرى اقل ءكلفة ءفىء فى ءقءءر ممءلفاء المءءءاء . ءءءر المءءءاء الفطرىة من مءموءة الءاءى لىوكرباماء مءالا للمءءءاء الهامة الءى ىمكن الكشف عنها وءقءءرها بعء ءءللها مءالا الى ءانى كبرىءور الكربون بمساءءة الجواهر الكشافة الملموءة . كءافة اللون بعء الاءءار ىمكن قىاسه لىس فقط بالطرىقة الاسبكترومءرىة ولكن بمءرء النظر فى الضوء المرئى . سهولة شراء ءوفىر اءءة الاسبكترومءرىة البسىطة والرءىصة ءءءل من الممكن ءقءءر العئءء من المءءءاء من اهمها البىنومىل والمءءءاء الفطرىة القرىة الءركىب منه . مركب الـ Thiabenda-zole ذات ءاءصىة الفورىسءىىة القوىة ىمكن ءمىىزها وبساطة بءءرىض عىناء الشمار للأشعة فوق البنفسجىة (UV) ومن ءم ءءءر هذه اءءى طرىق الفرءلة وءكشف عن ممءلفاء هذا المركب فى ءءوء ءءء فى الملىون او اكءر .

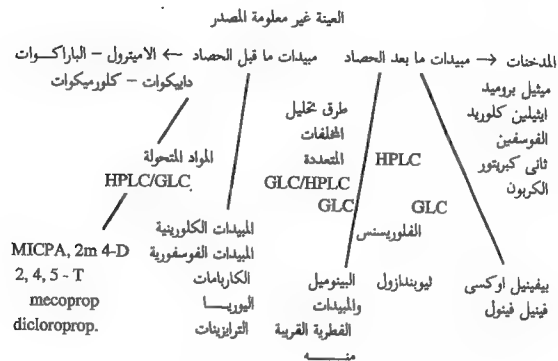
البرنامج (١) يوضح الاقتراب من عينة غير معروفة المنشأ باستخدام طرق قليلة التكلفة وهذا الاقتراب يعتبر ملائماً من الناحية التطبيقية لعدة اسباب منها : البساطة وفي النهاية توجد حدود للطرق القليلة التكلفة خاصة ما يتعلق بقلة التخصص والحساسية في حالة الخفايط المعقدة بوجه خاص ونفس الحال مع التركيزات الواطية . يتطلب التحكم والتحديد الدقيق لمخلفات المبيدات توفر اجهزة حديثة ومتقدمة وقد يميل تفكير البعض الى اعتبار جهاز الكروماتوجرافى الغازى GLC المزود بكاشفات متخصصة على اساس تجهيز معمل تحليل مخلفات المبيدات حديثاً ، لكن يجب اعتبار اهمية اجهزة UV والاسبكتروميتر والـ HPLC فى هذا الخصوص .



برنامج (١) : الاقتراب قليل التكلفة لعينة غير معلومة المصدر .

يمكن تطوير طرق الاستخلاص للمخلفات المتعددة بنجاح بما يلائم الكروماتوجرافى الغازى GLC فى بعض الحالات للـ HPLC . من بين اهم مجموعات المبيدات الهامة ما لا يمكن استخلاصها بالطرق العامة للمخلفات المتعددة ولكن يكشف عنها بالـ GLC وهى مجموعة مبيدات حشائش الفينوكس . هذه المركبات تتحول لتكوين استرات متطايرة . الاستر يقلد بالكروماتوجرافى الغازى باستخدام الكاشف صائد الالكترونات او غيره من الكاشفات المتخصصة . يمكن تقدير مخلفات المدخنات واسعة الانتشار والاستخدام مثل البروميديك الغير عضوى والايتيلين اوكسيد (الايتيلين كلوروهيدرين) والفوسفين وثانى كبريتور الكربون CS2 بصورة كمية بطرق الكروماتوجرافى الغازى . يمثل الشكل (٢) تحليل عينة مجهولة المصدر بطرق الاجهزة . والطرق

المدونة هنا تشمل تلك التي اوصت بها لجنة الدستور الخاصة بمخلفات المبيدات والتي نشرتها هيئة الـ GIFAB . عندما يجرى التحليل روتينيا في عينات مجهولة المصدر يجب ان تجرى اختبارات تأكيدية لتأكيد النتائج خاصة عندما تزيد المخلفات عن الحدود القصوى المسموح بتواجدها MRL او في حالة كشف مخلفات مبيدات غير معروف ارتباطها او استخدامها على السلعة محل الدراسة .



شكل (٢) : الاقتراب من تحليل عينة مجهولة المصدر بطرق الاجهزة .

واضح من الجدول (١) انه في العديد من المواد الوسيطة توجد بعض مخلفات المبيدات بصورة منتظمة وفي هذه الحالة لا تكون هناك ضرورة لاستخدام الطرق التأكيدية مع جميع العينات . في العادة تجرى الاختبارات التأكيدية بواسطة اعمدة بديلة للـ HPLC والكاشفات البديلة واسبيكترومتر الكتلة وظروف بديلة للـ TLC تفاعلات التحول وطرق الـ HPLC غالبا ما تكون بوسائل كشف مزدوجة واستخدام التفاعلات الكيميائية والعلبية .

هناك ما يعرف بطريقة GLC/SIM (selected ion monitoring) كاختبار تأكيدى لتقدير المبيدات الكلورينية في عينات كبد السمك حيث تتداخل الملوثات البيئية خاصة PCB's مع طرق التحليل . ويستعاض عن هذه الطريقة عالية التكلفة بطريقة الاختبار قليلة التكاليف والمعروفة (Retention Index monitoring) لتحليل وتقدير الخاليط المعقدة من مخلفات المبيدات . وهذه الاخيرة تعتمد على استخدام الكاشفات المتخصصة القوية الحرارية (ATD) او صائدات الالكترونات (ECD) .

الفصل الثلاثون

- تحليل المخلفات في المصادر المائية .

- ١ - مقدمة .
- * زيادة الانتاجية .
- * مكافحة ناقلات الامراض .
- * مكافحة النباتات المائية .
- * التسميم المتحكم فيه للبيئة .
- ٢ - مصادر المبيدات في الماء .
- * الصناعة .
- * التطبيقي .
- * الصرف السطحي .
- * تساقط واستقرار المبيدات من الجو .
- ٣ - تقسيم مبيدات الآفات .
- ٤ - الانتقال الحيوي .
- ٥ - الخواص الطبيعية والكيميائية .
- * الذوبانية .
- * التحلل المائي .
- * التقطير او التبخير .
- ٦ - طرق الجمع .
- * الادمصاص بالكربون .
- * جمع العينات مباشرة من الماء .
- * الاستخلاص بالطرد المركزي مع السوائل .
- ٧ - تنقية المستخلص
- أ - الادمصاص الكروماتوجرافي .
- ب - الكروماتوجرافي الورقي وذى اللوح الزجاجية المغطاة
- * الكروماتوجرافي الورقي .
- * الكروماتوجرافي ذو الطبقة الرقيقة على اللوح الزجاجية TLC .
- ج - الكروماتوجرافي السائل .
- د - الاستخلاص المتعدد .
- هـ - التسامي بالتفريغ .
- ٨ - تحليل المبيدات .
- * قائمة المراجع

بسم الله الرحمن الرحيم

تحليل مخلفات في المصادر المائية

R esidue Analyses in Water Resources

١ - مقدمة Introduction :

* زيادة الانتاجية Increased Productivity :

الانسان في صراع دائم ومستمر مع الطبيعة لكي يعيش بعيداً عن المعوقات والاضرار ومن المعروف انه يمكن تحقيق زيادة في الانتاج الزراعى من خلال التوسع الافقى (زيادة المساحات المنزرعة) او التوسع الرأسى (من خلال زيادة الانتاجية فى وحدة المساحة) عن طريق الاستفادة من استخدام المبيدات التى ساهمت لحد كبير فى تقليل الفقد فى الانتاج الزراعى والحيوانى . لا يمكن ان تكون المبيدات مأمونة تماما بل يصاحبها اخطار كبيرة تصل الى حد حدوث وفيات بشكل مباشر او غير مباشر من جراء التسمم بالمبيدات . من التأثيرات الخطيرة ما يحدث من جراء انتقال هذه السموم وفى كميات صغيرة بواسطة الماء او الهواء الى اماكن بعيدة لحد كبير عن المناطق التى تستخدم فيها المبيدات . وهذه تمثل مصدرا هاما من اسباب التأثيرات المتراكمة للمبيدات على الإنسان والحيوان والثير معروفة حتى الآن .

لا يقتصر الضرر الذى تحدثه الآفات على النباتات او الحيوانات لكنها قد تحدث اضرارا على اراضى الغابات والاشجار . عن طريق مكافحة الآفات يمكن زيادة انتاجية المحاصيل الحقلية والبستانية بالرغم من احتمالات حدوث اضرار على الكائنات الحية الموجودة فى مكان المعاملة بالمبيدات : لا يمكن تجاهل كميات المبيدات التى تتساقط وتصل الى التربة خلال عمليات التطبيق وبعد فترة من الانجراف والسيان تظهر مخلفات المبيدات فى مياه الصرف سواء كانت مدمصة على جسيمات الاثرية او موجودة فى مياه الرش .

* مكافحة ناقلات الامراض Control of Disease Vectors :

منذ سجلت علاقة الطاعون بالحشرات مات ملايين من البشر بسبب الاصابة بالامراض التى تنقلها الآفات . فى المقابل تناقصت حدة الامراض التى ينقلها البعوض والذباب والبراغيث والقمل منذ اكتشاف واستخدام مبيد الددد . حدثت مشاكل مقاومة الحشرات لفعل الددد مما ادى الى الكشف عن مركبات ومجاميع فعالة اخرى من المبيدات للتغلب على هذه الظاهرة : من افضل الطرق لمكافحة ناقلات الامراض معالجة المياه الراكدة او بطيئة الجريان بالمبيدات للقضاء على الاطوار اليرقية فى اماكن التواجد هذه مما يقلل ايضا من مجموع العذارى ومن ثم الاجيال التالية . ان استخدام المبيدات فى هذا الغرض مقصود يؤدى الى تواجد المبيدات فى البيئة المائية وان كنا الان نتجه الى استعمال مواد ذات امان نسبى عالى مثل مشابهات هورمونات الحداثة وغيرها من

المستحضرات الحيوية كالبكتريا او منظمات النمو الحشرية .

* مكافحة النباتات المائية **Control of Aquatic Growth** :

تستخدم كميات كبيرة من مبيدات الحشائش للتحكم فى نمو الحشائش المائية فى البحيرات ومستودعات المياه ومن المركبات التى تستخدم على نطاق واسع مركبات ٢, ٤ د الاكرولين ٢, ٤ - ٥ - نى او غيرها . لقد كان هذا موضوع خلافى مع المهندس / وزير الرى السابق عندما تباهى باستخدام كم هائل من المبيدات فى نهر النيل شريان الحياة لمصر واعتبرتها جريمة بحق فى حق الشعب المصرى الكريم وتناضلت فى سبيل ايقاف استخدام هذه السموم الخطيرة وقد وفقنى الله سبحانه وتعالى الى الصواب . وهناك مركبات عضوية كلورينية مثل الفيجون تستخدم لمكافحة نمو نباتات البلانكتون الاولى فى المياه وهذا يعنى تعدد اضافة المبيدات للمياه مرة اخرى .

* التسمم البيئى المتحكم فيه **Controlled Poisoning of the Environment**

فى بعض الحالات تستخدم مبيدات ذات سمية حادة عالية مثل التوكسافين لتسميم البحيرات بهدف طرد او القضاء على الاسماك الموجودة فى البحيرة وبعد تناقص تركيز المبيد الى اقل من الحد السام يتم زراعة البحيرة بنوع معين من الاسماك المرغوبة . تسميم البحيرات هذه لا يمر بدون اخطار حيث سيقوم تيار الماء المتدفق بحمل المبيد الى اماكن بعيدة .

لا نستطيع انكار ما قد يحدثه معاملة البحيرات بالمبيدات من اخطار على الاحياء المائية والمفترسات الارضية . ان النباتات المائية والحيوانات تستطيع ان تمتص وتركز هذه السموم فى البروتوبلازم الخلوى او فى الانسجة ومن ثم ادخال المبيدات بتركيزات عالية فى السلسلة الغذائية بعض التأثيرات يحدث فوراً وبشكل ماساوى وبعضها يحتاج لوقت والتأثيرات المؤكدة غير معلومة حتى الان .

* مصادر المبيدات فى الماء **Sources of Water-Borne Pesticides**

* الصناعة **Manufacture** :

تصل المبيدات الى المياه السطحية بطرق متعددة بعضها معلوم والاخر غير معلوم مصادره لقد تم الكشف عن مخلفات المبيدات فى المخلفات المنقاة من المصانع التى تقوم بتصنيع المواد الفعالة او مغالبات المستحضرات للمبيدات . من المصادر المؤكدة مياه غسيل الملابس الواقية الملوثة التى يرتديها العمال والعاملون فى مصانع المبيدات . تعامل المياه المستخلصة من المصانع كيميائيا او حيوييا قبل ادخالها فى المجارى المائية واذا لم تكن المعاملة كاملة وفعالة ١٠٠٪ سيكون تيار الماء يحتوى على كميات من المبيدات اعلى من ١ جزء فى البليون . بعد المعاملة وجدت كميات كبيرة من المبيدات فى الرواسب والنباتات المائية الاولى فى المياه . ان التخلص من المواد الصلبة المحتوية على المبيدات قد يسبب مشكلة كبيرة فى البيئة وقد تصبح مصدر من مصادر التلوث بالمبيدات اذا وصل الماء المتسرب الى التيار المتدفق من المياه . ان التخلص من المواد الصلبة الملوثة دون اجراء عملية الدفن قد تؤدى الى انتقال المبيد مع التربة التى تنجم من عمليات البخر التى تحدث مع سقوط الامطار الغزيرة . ان

مستحلبات المبيدات الناجمة من غسيل براميل المبيدات قد تكون مصدرا من مصادر التلوث اذا سمح لمياه الغسيل هذه بالدخول فى المجارى المائية . ان دور مصانع تجهيز المبيدات فى تلوث المياه مؤكدا وتوجد احصائيات كثيرة فى امريكا وغيرها من دول العالم ومنها مصر ويكفى لاي مار او زائر للمدينة كفر الزيات ان يشاهد بنفسه مأساة تلوث المياه من مخلفات المصانع الموجودة فى هذه المدينة ومنها مصنع للمبيدات .

* ٢ - التطبيق Application :

لا يمكن تفادى انجراف المبيدات اثناء التطبيق من مكان المعاملة ووصولها الى اماكن اخرى فى اتجاه الرياح السائدة . اذا كان تيار الماء واقعا فى نطاق الانجراف لا مفر من تلوث المياه بهذه المستحضرات . هذه المشكلة تتفاقم مع الرش الجوى للمبيدات بالطائرات وما زلت اذكر ما حدث فى المزارع السمكية . فى محافظة الفيوم عند رش القطن بالطائرات فى الموسم وحدث انجراف وسقوط المبيدات المنجرفة الى المزارع السمكية مما ادى الى كوارث . وهناك حالات تلوث عرضية فى المياه بالمبيدات او تكون مقصودة ومتعمدة .

* ٣ - الصرف السطحي Surface drainage :

الصرف السطحي للاراضى الزراعية لا بد ان يؤدى الى وجود مبيدات فى مياه الصرف بتركيزات تتراوح من ميكروجرامات الى ميكروجرامات لكل لتر من الماء . الرى بطريقة الغمر يتسبب فى حمل المبيدات مع الماء المنصرف اما الرى بالرش يصاحبه انجراف سطحي قليل بسبب حركة المياه القليلة خاصة مع المبيدات الذاتية فى الماء وحدث الترسب . اذا حدث ترسب كبير لا يؤدى الى حمل المبيد بعيدا من جسيمات التربة بالانفراد والتحرير ولكنه سيؤدى الى نقل المبيدات مع التربة التى حدث لها نحر من مكان المعاملة . تكون هذه الظاهرة اكثر وضوحا فى المناطق المطيرة حيث تكون التربة الناشئة من عمليات النحر ملوثة بالمبيدات .

* ٤ - تساقط واستقرار المبيدات من الجو Atmospheric deposition :

هناك دراسات ووثائق أكدت تواجد المبيدات فى الجو كابخرة او مدمصة على جسيمات الاثربة ومن ثم قد تنتقل من اماكن تواجدها الى اماكن بعيدة وتسقط مرة اخرى مع الامطار وان كان ذلك جائزا فى البلاد الصناعية كامريكا الا ان البحوث التى وقعت فى يدى والتى أجريت فى مصر اوضحت وجود المبيدات فى مياه الامطار بالرغم من ندرتها فى مصر .

* ٣ - تقييم مبيدات الآفات Pesiticide classification :

يمكن تقسيم المبيدات تبعا للمجاميع الشائعة الفعالة والمسئولة عن إحداث التأثيرات المطلوبة على الآفات المستهدفة . من اكثر المجموعات شيوعا الكلورينية والفوسفورية والكاربامات وهناك مجموعات اخرى مثل الداي نيترو والاميدات والالدهيدات الغير مشبعة والاريل داي كربوكسيلات وغيرها . الجدول التالى يوضح اهم المجموعات الثلاثة الرئيسية والفرعية لكل منها ولن اذكر التركيب لاي باحث او قارئ يستطيع الوصول الى التركيبات الكيميائية بسهولة ويسر .

جدول (١) : تقسيم ميبدات الآفات .

المجموعة الرئيسية	تحت المجموعة	امثلة عن المبيدات
المبيدات الكلورينية العضوية	الأيدروكربونات الكلورينية	لندن - الدرين هبتاكلور - ددت - كلثين
	ايدروكربونات كلورينية ايوكسية	ديلدرين - اندرين
	كلوروفينوكس	هبتاكلور ايوكسيد ٢، ٤ - د ٢، ٤ - ٥ - ثي ،
	يوربا احلالية	يونيرون - ديورون نيورون
المبيدات الفوسفورية العضوية	الفورسفور ودايفوات	مالاثيون - داي سستون ايشيسون
	فوسفوروثيوات	باراثيون - سيمتوكس
	فوسفات	- فوزدرين
الكربامات	كاربامات	سفين ايتام - فابام
مبيدات كلورينية عضوية	ترايازين	سمازين - كلورازين
	كلورواستاميد	- رادوكس
	احماض عضوية كلورينية	تراي كلورواستيك اسيد حمض ٢، ٢ - داي كلورو - بيريونيك اسيد

تابع جدول (١)

المجموعة الرئيسية	تحت المجموعة	أمثلة عن المبيدات
	مركبات كلورينية بها كبريت	أراميت - ميتوكس
		فينون - جينين
كاربامات	داى يثوكرامات	

* ٤ - الإنفعال الحيوى Biological uptake :

يمكن ان تمتص المبيدات الكلورينية العضوية من المحاليل المائية بواسطة العديد من الاحياء المائية التى يمكنها ان تعيش تحت هذه الظروف اذا كانت المبيدات موجودة بتركيزات صغيرة غير سامة . تقوم هذه الاحياء فى هذه الظروف بامتصاص المبيدات وتخزينها فى الانسجة الدهنية / أو تمثيلها الى مواد غير سامة . فى حالات معينة يحدث تمثيل كامل لهذه المبيدات . فى دراسة اجريت فى الولايات المتحدة الامريكية وجد الددت مخزنا فى المحار خلال ٤٠ يوما من التعرض بكميات تزيد عن ٧٠,٠٠ مرة عما هو موجود فى الماء من تركيز فى حدود او جزء فى البليون . وليست هناك ادلة على حدوث تسمم للانسان من جراء وجود المبيدات الكلورينية فى الماء فى حدود واحد فى التريليون بينما هناك ادلة عن حدوث تراكم من جراء التعرض لهذه التركيزات البسيطة من المبيدات .

هناك ادلة على حدوث انتقال للمبيدات الكلورينية مع النباتات المائية مثال ذلك امتصاص مبيدات مكافحة الطحالب بواسطة البلانكتون . اثبت Wheeler ١٩٦٥ امتصاص دد . اى والدليلرين بواسطة المجموع الجذرى لمحاصيل الحبوب والتجليات الاخرى . وهذه المبيدات تتوزع بعد ذلك فى جميع اجزاء النباتات . من الغريب ان المبيدات الفوسفورية لا تسبب اختطارا كبيرة فى البيئة المائية كما هو الحال فى البيئة الارضية بسبب ان هذه المركبات اقل ثباتا فى الماء عن المبيدات الكلورينية . كما ان المبيدات الفوسفورية لا تخزن فى الانسجة الحيوانية . معظم النباتات المائية والارضية لها المقدرة على امتصاص المبيدات الفوسفورية والاحتفاظ بانسجتها ولفترة محدودة . المبيدات الفوسفورية من مجموعة الفوسفور ودائبات والثبات قابلة للاكسدة الى مركبات اكثر سمية بواسطة العديد من النباتات قد تحفظ على هذه الحالة فى البروتوبلازم الخلوى او الانسجة النباتية لفترات مختلفة من الوقت .

لا توجد ادلة على ان المفترسات الموجودة فى الماء والتى تتغذى على البلانكتون المحتوى على المبيدات الفوسفورية تستطيع تناول كميات كافية تؤدى الى التسمم او الموت .

بسبب الذوبان العالى للمبيدات الفوسفورية فى الماء ثم الكشف عنه وتطوير ما يعرف بالمبيدات الجهازية Systemic ومن احد طرق التطبيق لهذه المجموعة السماح لحلول مائى منها

التحرك خلال التربة ووصوله الى منطقة الجذور حيث يقوم النبات بامتصاصها . من الشواهد المؤكدة ان النباتات المائية المغمورة او الطافية فى الماء المحتوى على المبيدات الفوسفورية تستطيع ان تزيل هذه المبيدات من الماء او الرواسب العالقة فى الماء . او فى القاع من خلال الامتصاص بواسطة الجذور .

* ٥ - الخواص الطبيعية والكيميائية Physical and Chemical Properties :

١ - الذوبانية Solubility :

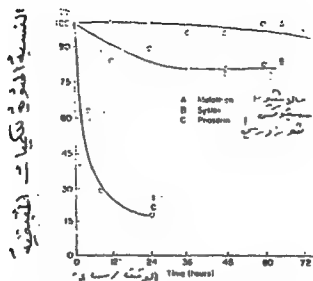
تختلف ذوبانية المبيدات الكلورينية العضوية فى الماء تبعا للتركيب الكيميائى للمركب ولاغربة فقد يوجد الددت فى صورة محلول حقيقى او فى تجمعات جزئية فى المحلول المائى حيث تصل حجم الجسيمات ١,٢ ميكروجرام/لتر و ١٥ ميكروجرام/لتر على التوالى على درجة حرارة ٢٥°م وأقطار الجسيمات تصل الى ٤١ فى مقابل ١٠٠٠ ميكرونفى المحلول الحقيقى والمعلق على التوالى . تمثل الحبيبات الكبيرة فى المعلق ٨١٪ والدقيقة ١٠٪ . درجة قطبية المركب تحدد ذوبانيته فى الماء . بالرغم من تماثل مركبات الميثورون والديرون (مجموعة الكلوروبرا) الا ان الذوبانية كانت ٢٣٠,٤٢ ملليجيم/لتر على التوالى . هناك اختلافات كبيرة فى ذوبانية المبيدات الفوسفورية بوجه عام يمكن القول ان مركبات الدالاثوات اقل ذوبانية من الثيوات وهما فى المقابل اقل ذوباناً من الفوسفات او الفوسفونات . لتوضيح ذلك نشير الى ذوبانية بعض المركبات الفوسفورية العضوية ملايثون ١٤٥ ملليجيم/لتر ديازينون ٠٤ ر ملليجيم/لتر داليسيتون ٢٥٠ ر ملليجيم / لتر .

ب - التحلل المائى Hydrolysis :

المبيدات الفوسفورية غير ثابتة فى الماء بسبب قابليتها للتحلل المائى . بوجه عام فان معدل التحلل فى الماء المتأين او المقطر يزيد مع نقص الكبريت فى جزئى استرات الفوسفور الخماسى الشكل (١) يوضح النسبة المثوية للملايثون والسيتوكس والفوزدرين المتبقية فى الماء المتأين على درجة حموضة ٥,٥ ودرجة حرارة ٢٥°م . تتوقف درجة التحلل المائى للمبيد الفوسفورى على نوع الايونات الموجودة وكذلك درجة الحموضة . لقد وجد Dunstan ، ١٩٦٣ ان معدل التحلل المائى يزداد بزيادة الحموضة .

جـ - التقطير او البخير Codistillation :

بعض المبيدات الكلورينية يحدث لها تقطير مع الماء كما يحدث فى الددت تحت درجة حرارة محددة وقد اظهرت الاشكال البيانية حدوث معدلات التقطير للددت ..



النسبة المئوية للفوسفور المتبقية

شكل (١) : التحلل المائي للمبيدات الفوسفورية العضوية عند تركيز اقل من ١٠٠ ميكروجرام / لتر على ثلاثة درجات حرارة مختلفة وكانت العلاقة بين التقطير والتبخير خطية . هناك تأكيدات على ان معظم المبيدات الغير قطبية يحدث لها تقطير او تبخير مع الماء .
مازال هذا الجزء من الدراسة فى حاجة الى بحوث .

* ٦ - طرق الجمع Methods of collection :

يتوقف اختيار طريقة جمع عينات الماء على تركيز المبيد فى الماء وكمية عينة الماء المتاحة وحساسية الطريقة او الطرق المستخدمة فى التحليل . توجد ثلاثة طرق شائعة الاستخدام هي (١) الجمع المباشر لعينات المياه (٢) الاستخلاص بالطرد المركزى بين وسطين سائلين . (٣) الادمصاص على الفحم المنشط . نستخدم الطريقتين الاخيرتين للعينات خلال فترات طويلة مع المبيدات الموجودة بكميات صغيرة فى حدود البيكوجرام او اكثر . الطريقة المباشرة غالبا ما تستخدم فى حالة ما اذا كان مطلوب اخذ عينات كثيرة لحظية حيث يكون حجم عينة الماء قليلا حوالى ٢٠ لتر او اقل او / وعندما تكون المبيدات موجودة فى مستوى النانوجام / لتر او اكبر .

١ - الادمصاص بالكربون Carbon adsorption :

من اكثر الطرق التى شاعت كثيرا منذ عام ١٩٦٠ حيث أستخدمت فى الولايات المتحدة الأمريكية لاستكشاف تلوث الماء فى البرنامج القومى الذى وضع هناك . لن اخوض فى تفصيلات الطريقة وعلى كل من يرغب ان يبدل الجهد ويطلع على تجارب الآخرين . اساس هذه الطريقة مقدرة الكربون المنشط على الادمصاص الكمي للمركبات من الماء ثم تحرير المركبات الممسوكة على الفحم باستخدام المذيبات العضوية المتطايرة والملائمة او مخاليط المذيبات .

١ - الجمع على الكربون :

يستخدم أسلوب الادمصاص العملى بطريقة السريان العالى وحجم العينة المناسب هنا ١٨,٩٢٥ لتر بينما الانسياب المنخفض يحتاج الى ١٠٠٠ لتر فى العينة . هذا يستدعى اخذ العينات على مدى اسبوع فى العينات التى تحتوى على تركيزات من المبيدات تتراوح من ٠.٥ ر نانوجرام وحتى ٠.٥ ميكروجرام / لتر / والرسم التالى يوضح تركيب وحدة الادمصاص ذو السريان العالى مع الكربون والتى تستخدم فى جهاز خدمات الصحة العامة الأمريكى لاستكشاف تلوث الماء (١٩٧٤) . ومعظم الباحث يقومون بمحاكاة هذه الوحدة ويجرى دراساتهم عليها . فى الوحدة يتم ضخ الماء او يسمح له بالانسياب تحت ضغط جوى من ١٥ - ٥٠ ضغط جوى . يتم ضخ الماء فى خزان سعة ٣٠ جالون وتخفف فيه لمدة ١ - ٢ ساعة وحتى يزال كل الرواسب المستقر فيها . قد يزود الخزان بصمام او مرشح للتخلص من الغرويات والمواد العالقة أو مرور الماء بعد ضخها على مرشح وحديثا تم تطوير انبوب الادمصاص Cartridge المصنوع من زجاج خاص من البروسليكات ذات قطر ٣ بوصات و ١٨ بوصة فى الطول وهو مملوء بكربون على درجة عالية من النقاوة ٣٠ مش . ولقد شاهدت الباحث فى معمل بحوث التلوث البيئى والرى الكيمىمالي « chemigation » فى محطة بحوث تفتون Tefton فى جامعة جورجيا فى الولايات المتحدة الأمريكية يعملون بهذه الانابيب للحصول على المبيدات من المياه .

من الطبيعى ان كميات المبيدات التى تصل الى الفحم المنشط تكون اقل من الكميات الاصلية الموجودة فى الماء . من المعروف ان الفحم المنشط غير متخصص حيث يعمل على ادمصاص العديد من المركبات العضوية الموجودة فى الماء ولقد اتفق على ان وقت تلاقى الكربون مع الماء للحصول على اقصى ادمصاص للمبيد على الفحم من ١٥ - ٢٠ دقيقة . يحدث اعلى ادمصاص عندما يكون الماء حامضى قليلا او متعادل .

لقد وجد ان تقليل معدل الانسياب خلال انبوب الكربون وتقليل كميات المواد العضوية الموجودة فى الماء سيزيد من كفاءة عملية الادمصاص بالكربون . لقد صمم Castelli , Booth and نظام للتحكم وقياس التلوث فى كميات صغيرة من الماء عند معدلات انسياب منخفضة وتم تطوير الوحدة بواسطة Reid وآخرون ١٩٦٤ وهى وحيدة متقلة تحتاج فقط الى مصدر كهربى .

٢ - تحرير المبيد من على الكربون Pesticide desorption :

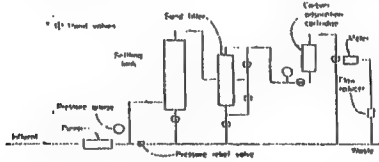
بعد اكتمال وقت الادمصاص تزال الانابيب وتجفف محتوياتها قبل الاستخلاص او يجرى الاستخلاص وهى مبلولة . اذا اجرى التجفيف لا يمكن استبعاد حدوث بخر وفقد لكمية من المبيد مع الماء وقد يجرى الاستخلاص بواسطة جهاز سوكلست المتطور ولمدة ٢٤ - ٣٥ ساعة وقد تحتاج لسلسلة من عمليات الاستخلاص لا نستطيع ان نوصى بمذيب معين او مخلوط من عدة مذيبات

للحصول على المبيدات المدمصة على الكربون حيث ان معدل الاسترجاع Recovery هو الفيصل والاساس . لا بد ان تستخدم مذيبات عضوية عالية النقاوة ومن اكثرها شيوعا المذيبات التالية :

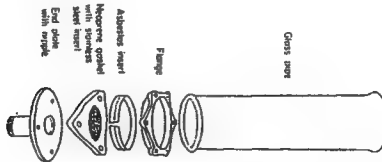
* مخلوط الكلوروفورم والميثانول ١ : ١ أو الدايكلورور ايثان ٢٠ : ١ فى البتروليم ايثير وهى تفيد فى تحرير المبيدات الكلورينية العضوية ومشتقات الايوكس للاندروكربونات .

* البنزين او مخلوط البنزين مع الايزوبروبيل وتفيد فى تحرير المبيدات الكلورينية الحلقية والعطرية والمبيدات الفوسفورية من مجموعة الثيوفوسفات .

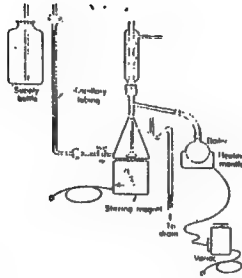
* لقد اشار هاملتون (١٩٦٣) امكان تحرير المركبات العضوية من على الكربون المبلول باستخدام ٤٧ ٪ دايكلوروبروبان فى الميثانول يسمح بتخير ما يقرب من ٣٠٠ - ٥٠٠ مليلتر مذيب ثم يبخر الباقي بالتبخير تحت التفريغ على درجة حرارة منخفضة لم يركز الباقي باستخدام وحدة كودرنادانث . فى جميع الحالات يجب تنظيف المستخلص قبل التحليل النهائى .



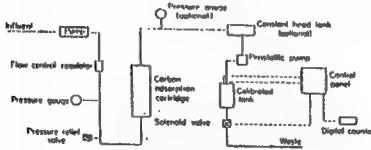
شكل (٢) : رسم توضيحي لوحدة الإدمصاص على الكربون ذات الإنسياب العالى



شكل (٣) : كبسولة الإدمصاص الكربونية



شكل (٥ - ب) : رسم تخطيطي لجهاز الاستخلاص المستمر للمبيدات الكلورينية



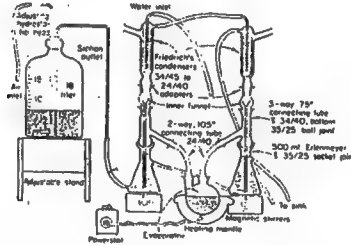
شكل (٤) : رسم تخطيطي للإدمصاص بالكربون ذات الإنسياب البطيء

ب - جمع العينات مباشرة من الماء

يمكن جمع عيناء الماء مباشرة في زجاجات bottled samples في ظروف معينة بالطريقة تتضمن جمع حجم معلوم (من ١ وحتى ٢٠ لتر ماء) في اناء زجاجي أو مصنوع من التيفلون مزود بقطاء من التيفلون أو مبطن بالتيفلون. يجب اخذ كافة الاحتياطات حتى نضمن ان تكون العينة ممثلة للمجموع. يمكن الحصول على المبيد بتكرار عمليات الاستخلاص. طريقة جمع العينات هذه لها مميزات وعيوب بالمقارنة بطريقة الادمصاص على الكربون او الكفاءة العالية في مسك وتحرك المبيدات من الماء يمكن تحقيقها باستخلاص عينات متميزة وواقعية والوقت اللازم لتنقية كبيرة للعينات في حالة احتوائها على مواد عضوية. أشار Gauffin عام ١٩٦٥ الى خطوات هذه الطريقة حيث تؤخذ عينة واحد لتر ماء وتنقل الى قمع فصل سعة ٢ لتر ثم يقفل باحكام بصنبور من التيفلون. يحمض الماء باضافة ٢ مليلتر حمض ايدروكلوريك مركز ويكرر الاستخلاص مع ١٠٠ مليلتر مرة واحدة واربعه مرات كل منها ٥٠ مليلتر مذيب عضوى.

هناك احتمال لتكوين مستحلبات بالرغم من اضافة الحامض ومن ثم يمكن التغلب على عملية الاستحلاب باضافة قليل من الإيثانول . يتم ترشيح مجموع المستخلصات في عمود من كبريتات الصوديوم اللامائية للتخلص من اى اثار متبقية من الماء . يتم جمع المستخلصات الجافة وتركز بالتبخير تحت تفريغ او اى مركز اخر وقبل عمليات التقية .

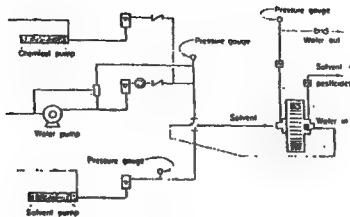
هناك طرق عديدة يمكن الرجوع اليها وهى اكثر تطوراً .. ومثال ذلك طريقة Kawahara واخرون عام ١٩٦٥ . لقد نجحت المذيبات التالية فى استخلاص المبيدات الكلورينية ومشتقاتها الايوكسية والمبيدات الفوسفورية العضوية - هكسان ، رابع كلوريد الكربون ، كلوروفورم ، ٢٠ ٪ دايكلوروميثان فى البتروليم ايثر ، البنزين وكذلك مخلوط من الايثايل ايثر والبتروليم ايثر ١ : ١ . لقد طور جهاز للاستخلاص المستمر بواسطة الباحثان Sanderson and Ceresia عام ١٩٦٥ وهو يفيد جدا فى حالة العينات المحتوية على كميات صغيرة من المواد العضوية الدالة . هناك جهاز اكثر تطوراً من تصميم الباحثان Kahn and Wayman عام ١٩٦٤ للاستخلاص المستمر وتم تحويله بواسطة Nair and compton (١٩٦٦) يصلح للمبيدات الكلورينية مثل الالدين والديلدين .



شكل (٥ - أ) : رسم توضيحي لجهاز الإستخلاص السريع والمستمر والجهاز مع الجاذبية

ج - الاستخلاص بالطرد المركزي مع السوائل

تعتبر من احدث الطرق لجمع وتركيز المركبات العضوية من الماء فى المواقع الميدانية . اخذت طريقة الاستخلاص ميزة الادمصاص العالى مع المذيب بدون تحديد لحجم عينة الماء وبدون تكوين المستحلبات بين المذيب والماء . ثم تصميم جهاز لجمع الملوثات العضوية من المياه السطحية بواسطة Bunch and Ettinger (١٩٦٥) كما هو موجود فى الشكل (٦) . وهذا الجهاز سهل الحمل والنقل ويحتاج لمصدر للطاقة .



شكل (٦) : رسم توضيحي عن المستخلص الإنسيابي المعتمد على الطرد المركزي بين سائلين

* ٧ - تنقية المستخلص

المستخلصات المركزة التي تم الحصول عليها باى من الطرق الثلاثة السابقة لابد وان تحتوي على مركبات عضوية بخلاف المبيدات . كمية المواد المتداخلة فى المستخلص تتوقف على تركيزها فى عينة الماء وحجم العينة ومدى الفصل الجزئى لها من الوسط المائى الى المذيب العضوى . من المؤسف ان بعضا من هذه المواد العضوية « شوائب » تستجيب بنفس طريقة استجابة بعض المبيدات عند التحليل زمن ثم يجب التخلص من هذه المواد العضوية المتداخلة وقبل تركيز المستخلصات ويتم ذلك باحد الطرق التالية :

أ - ادمصاص الكروماتوجرافى :

تستخدم نفس طرق التنظيف الشائعة من المواد الغذائية فى تنظيف المستخلصات المتحصل عليها فى الماء من الشوائب والمواد العضوية الموجودة . سليكات الألومنيوم كما جهزت فى طريقة Smith and Coulson (١٩٦٢) تعتبر مفيدة فى تنظيف المستخلصات المحتوية على مواد نباتية متحللة وكذلك الصبغات النباتية . المحلول المحتوى على ٦٪ ايثيل ايثر فى الهكسان سيزيح معظم المبيدات الكلورينية او الثيوفوسفات من سليكات الالومنيوم بمعدل استرجاع اكثر من ٩٠ ٪ . الهكسان يستطيع ازالة اللدئين وال د د ت وزيادة نسبة الايثيل ايثر فى المخلولوط عشر مرات او اكثر يمكن ازالة المبيدات الاكثر قطبية .

نجح الفلوروسيل نجاح محدود كمادة ادمصاصية فى تنظيف المستخلصات المحتوية على الصبغات والمواد النباتية والحيوانية . الفلوروسيل المعاد تنشيطه على درجة حرارة ٦٥٠° م يصلح مع المبيدات الكلورينية والفوسفورية المحتوية على مجموعة الثيو ويمكن ازالة هذه المبيدات باستخدام مخلوط يحوى على ٢٠٪ دايكلورو ايثان فى البتروليم ايثر .

المستخلصات المحتوية على كميات عالية من المواد الدهنية أو الشمعية يستخدم معها الألومينا القاعدية ويتم ازالة المبيدات المدمصة عليها بواسطة مخلوط الايثيل ايثر - هكسان او مخلوط الاسيتون/تريل مع الماء . يستخدم البنزين المبلول للتخلص من الصمغيات والمواد النباتية من المستخلصات المائية ومادة الادمصاص مخلوط من الكربون النشط المغسول بالحامض والأككلاي ويتم ازالة المبيدات بواسطة البنزين فى الماء ومعدل الاسترجاع على .

ب - الكروماتوجرافى الورقى وذى الالواح الزجاجية المغطاة :

هذه الطريقة تحتاج لوقت طويل ولكنها تحقق معدلات استرجاع عالية .. سنتناول هذه الطرق باختصار :

* ١ - الكروماتوجرافى الورقى : قدم فيليبس (١٩٦٤) طريقة فيها يتكون الوسط الثابت من شحم السيليكون 30 - SE فى الايثيل ايثر ووسط متحرك من ٩٠ ٪ ايثانول فى الماء المقطر . هذه الطريقة تفيد فى حالة المبيدات الكلورينية ويفضل تغيير الوسط المتحرك الى ن ، ن - دايميثيل فوراميد مع المبيدات الفوسفورية . قد سبق وصف هذا التكنيك بالتفصيل ، ونشير الى انه بعد تجهيز الورقة بالوسط الثابت يتم تنقيط المستخلص بالمقارنة بنقطة من المبيد القياسى وتجري عملية الازاحة بالوسط المتحرك وبالمكان المبيد وتفصل المنطقة ويجرى عليها التقدير .

* ٢ - الكروماتوجرافى ذو الطبقة الرقيقة على الالواح الزجاجية :

تعطى نفس النتائج بالفصل الورقى ولكنها تأخذ وقتا اقل وتكون ازالة المبيد اكثر سهولة . ثبت ان افضل مواد الادمصاص هى السليكا جيل G او الكيميل جيل G لفصل المبيدات الكلورينية وكذلك الفوسفورية واحسن مذيب مع الكلورينية هو رابع كلوريد الكربون ، اما مخلوط البنزين مع الاسيتون ٩ : ١ يصلح مع المبيدات الفوسفورية .

جـ - الكروماتوجرافى السائل :

استخدمت هذه الطريقة لفصل المبيدات الفوسفورية الجاهزة من الماء والمواد الغير ذائبة الموجودة فيها . يمكن الرجوع الى De Vries (١٩٦٥) .

د - الاستخلاص المتعدد :

هناك جهاز يحقق الاستخلاص المتعدد ذو الخمسة اطباق . ولقد شاهدت وحدة متطورة جدا فى ولاية ميريلاند - وزارة الزراعة الامريكية USDA ، ولقد نجح Beroza (١٩٦٥) فى استخدام جهاز كريج Craig .

هـ - التسامي بالتفريغ :

اقتُرحت هذه الطريقة لفصل المواد الاضافية المتطايرة من الغذاء بواسطة Mr Cauley and Cook (١٩٦١) وقام Furrow وآخرون عام ١٩٦٥ بتحسين كفاءة هذا الجهاز وجعله مناسباً لفصل وتنقية مخلفات المبيدات من الشوائب الموجودة فيها . عند ضغط ٣ تنطير العديد من المبيدات وتتسامى او تتبخر على درجة ٨٥° م . يمكن بعد ذلك تقطير او تكثيف البخار في مصيدة مغموسة في الثلج الجاف والاسيتون . معظم المواد العضوية الموجودة في الماء تكون اقل تطايراً من المبيدات (اقل ضغط بخارى) مما يجعلها مستقرة في دورق التفريغ . قد يفضل اجراء تنظيف اضافي من خلال الكروماتوجرافى على الالواح الزجاجية أو الغازى . التسامى على درجة ٨٥° م لمدة ٨٥ دقيقة تعطى معدل استرجاع على معظم المبيدات الفوسفورية العضوية وبعض الكلورينية . فى حالة العينات المجهولة يجرى التسامى لمدة ٤٠ دقيقة .

* ٨ - تحليل المبيدات :

تتواجد مخلفات المبيدات فى الماء بكميات صغيرة جداً فى حدود النانوجرام وهذا يتطلب استخدام طرق حساسة ودقيقة للإستخلاص والتنقية والتقدير . منعا للتكرار سأشير الى اهم الطرق المستخدمة فى التقدير النهائى للمبيدات حيث تناولت فى ابواب سابقة جميع الطرق بالتفصيل .

أ - الكروماتوجرافى الغازى .

ب - الكروماتوجرافى الورقى ذو الالواح المنطاة بالطبقة الرقيقة .

جـ - الاسبكتروسكوبى بالأشعة تحت الحمراء .

د - الاسبكتروسكوبى الخاص بالكتلة .

هـ - الطرق البولاروجرافية .

REFERENCES قائمة المراجع

- Acree, F., Jr., Beroza, M., and Bowman, M. C. (1963). *J. Arg. Food Chem.* 11, 274.
- Amy, J. W., Chait, E. M., Battinger, W. E., and McLafferty, F. W. (1965). *Anal. Chem.* 37, 1965.
- Benyon, J. H. (1960). "Mass Spectrometry and Its Application to Organic Analysis." American Elsevier, New York.
- Beroza, M. (1965). Abstrs. 149th Meeting Am. Chem. Soc., Detroit, Michigan, April, 1965, p. 16A.
- Booth, R. L. (1963). "Optimum Sampling, Rate and Sample Volume for Quantitative Measurements of organics by the Present Standard Carbon Adsorption Method." U.S. Dept. Health, Education and Welfare, Public Health Service, Div. Water Supply and Pollution, R. A. Taft San. Engrg. Center, Cincinnati, Ohio.
- Bowman, M. C., Acree, F., Jr., and Corbett, M. K. (1960). *J. Agr. Food Chem.* 8, 406-408.
- Bunch, R. L., and Ettinger, M. B. (1965). paper presented at 20th Ind. Waste Conf., Purdue Univ., Lafayette, Indiana.
- Burtchell, H., and Boyle, H. E. (1964). Preprint. 147th meeting Am. Chem. Soc., Div. of Water and Waste Chemistry, Philadelphia, Pennsylvania, April, 1964, Vol. 4. p. 134.
- Castelli, J. A., and Booth, R. L. (1964). "Metering and Measuring Liquid at Low Flow Rates." U.S. Dept. Health, Education and Welfare, Public Health Service, Div. Water Supply and Pollution, R. A. Taft San. Engrg. Center, Cincinnati, Ohio.
- Cavanagh, L. A. (1963). *Pesticide Res. Bull.* 3, 1. Stanford Research Inst., Menlo Park, California.
- Cohen, J. M., and Pinkerton, C. (1965). Preprint, 150th Meeting Am. Chem. Soc., Div. Water, Air, and Waste Chem., Atlantic City, New Jersey, September, 1965, Vol. 5, p. 20.
- Devlries, D. M. (1965). Abstrs. 149th Meeting Am. Chem. Soc., Detroit, Michigan, April, 1965, p. 6A.
- Farrow, R. P., Elkins, E. R., Jr., and Beachman, L. M. (1965). *J. Assoc. Offic. Arg. Chemists* 48, 738.
- Fishbein, L., and Zielinski, W. L., (1965). *J. Chromatog.* 15, 9.

- Hamilton, C. E. (1963). *Water Sewage Works* 110, 422.
- Hindin, E., and Dunstan, G. H. (1963). Research Rept. 63/12-155, Div. Ind. Res., Washington State Univ., Pullman, Washington.
- Hindin, E., Hatten, M. J., May, D. S., Skrinde, R. T., and Dunstan, G. H. (1962). *J. Am. Water Works Assoc.* 54, 88.
- Hinjdin, E., May, D. S., and dunstaqn, G. H., (1965). In "Residue Reviews" (F. A. Gunther ed.), Vol. 7, p. 130. Springer, New York.
- Kahn, L. and Wayman, C. H. (1964). *Anal. Chem.* 36, 1340.
- Kantner, T. R., and Mumma, R. O. (1965). Abstrs. 150th Meeting Am. Chem. Soc., Atlantic City, New jersey, September, 1965, p. 13A.
- Kawahara, F. K., Eichelberger, J. W., Reid, B. H., and Stierli, H. (1965). Public Health Service Water Pollution Surveillance System Applications Report No. 16, Dept. H.E.W., P. H. S., R. A. Taft Engrg. Center, Cincinnati, Ohio.
- Lamar, W. L., Goerlitz, D. F., and Law, L. M. (1965). Abstrs. 150th Meeting Am. Chem. Soc., Atlantic City, New jersey, September, 1965, p. 27X.
- Langlois, B. E., Stemp. A. R., and Liska, B. J. (1964). *J. Agr. Food Chem.* 12, 243.
- McCauley, D. F., and Cook, J. W. (1961). In "Instrumental Methods for the Analysis of Food Additives" (W. H. Butz and H. J. Noebels, eds.), p. 83, Wiley (Interscience), New York.
- McKinley, W. P. (1963). In "Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives" (G. Zweig. ed.) vol. I, p. 227. Academic Press, New York.
- Nair, J. III. and Compton, B. (1966). Private communication. Syracuse University Research Corp.
- Nicholson, H. P., Webb, H. J., Lauer, G. J., O'Brien, R. D., Grzenda, A. R., and Shanklin, D. W. (1962). *Trans. Am. fisheries Soc.* 91, 213.
- Phillips, W. F. (1964). Abstrs, 148th Meeting Am. Chem. Soc., chicago, Illinois, September, 1964, p. 23 A.
- Reid, B. H., Stierli, H., Henke, C. F., and Breindenbach, A. W. (1964). Public Health Service Water Pollution Serveillance System Application and Development Report No. 13, Dept. H. E. W., P. H. S., Div. of Water Supply and Pollution Control, Wahsington, D. C.

- Rollins, R. Z. (1960). proceedings 10 th Convention Agri.. Aircraft Assoc. Inc., Palm Springs, California.
- Rosen, A. A., and Middleton, F. M., (1959). Anal. Chem. 31, 1729.
- Sanderson, W. W., and Ceresia, G. B. (1965). J. Water Pollution control Federation 37, 1167.
- Saunders, R. A., and Williams, H. E. (1963). In "Mass Spectrometry of Organic Ions" (F. W. McLafferty, ed.), p. 354. Academic Press, New York.
- Sigworth, E. A. (1959). Taste and Odor Control J. 25, 4.
- Smith, D. J., and Eichelberger, J. W., (1964). Public Health Service Water Pollution Surveillance System Application and Development Report No. 9, Dept. H.E.W., P.H.S., R. A. Taft San. Engrg. Center, Cincinnati, Ohio.
- Smith, O. D., and Coulson, D. M. (1962). pesticide Res. Bull. 2, 15, Stanford Research Inst., Menlo Park, California.
- Teasley, J. L., and Cox, W. S. (1963). J. Am. Water Works Assoc. 55, 1093.
- Thornburg, W. W. (1963). In "Analytical Methods for pesticides, Plant Growth Regulators, and Food additives" (G. Zweig, ed.), kVol. I, p. 87. Academic Press, New York.
- U.S. Dept. Health, Education, and Welfare (1960). "National Water Quality Network Operating Manual." Public Health Service, Washington, D.C.
- U.S. Dept. Health, Education, and Welfare (1964). "the Identification and Measurement of Chlorinated Hydrocarbon Pesticides in Surface Water," Public Health Service, publ. No. 1241, Washington, D.C.
- U. S. Fish and Wildlife Service (1965). Absts. In Water newsletter 7, Sept. 22, 1965, Water Information Center Inc., New York.

الفصل الواحد والثلاثون

- تحليل المبيدات فى السمك والحياة البرية

Pesticide Analysis in Fish and wildlife

* مقدمة Introduction .

* مشاكل المبيدات على الاسماك والحياة البرية

Fish and wild life pesticide problems

* اهمية مخلفات المبيدات Importance of pesticide residues

- تعرض الأسماك والاحياء البرية لمبيدات الآفات

Exposure of fish and wildlife to pesticides

أ - مصدر التعرض Source of exposure .

- انواع التعرض Types of exposure .

- سمية وضرر مبيدات الآفات Toxicity and hazards of pesticides

- التأثيرات المباشرة وغير المباشرة لمبيدات الآفات .

Direct and indirect effect of pesticides

- دراسات عن المبيدات والاسماك والاحياء البرية

Fish and wild life pesticide studies

١ - الدراسات للمعملية Laboratory investigations

٢ - الاختبارات التى تحاكي الحقيقة Simulated field tests

٣ - الاختبارات الحقلية Field investigations

أ - الاستكشاف Monitoring

ب - الحصر Surveillance

ج - البحث Research

- اخذ العينات لتحليل مخلفات المبيد

Sampling for pesticide residue analysis

أ - التخطيط لبرنامج العينات Planning the sampling program

ب - احجام العينة Sampling sizes

- جـ - اوزان العينة Sample weights
 - د - تناول وتخزين العينة Sample handling and storage
 - هـ - العينات الحيوانية Animal samples
 - س - عينات الماء Water samples
 - ط - طرق التحليل Analytical methods
 - أ - قياس النشاط البيولوجي Measurement of biological activity
 - ب - طرق التحليل الكيميائية للمخلفات Chemical Residue Analysis
 - ١ - اختيار طرق التحليل Selection of analytical procedures
 - ٢ - تجهيز العينة Sample preparation
 - ٣ - تحليل العينة Sample analysis
 - ٤ - تحليل النسيج Analysis of tissue
 - ٥ - تحليل العينات النباتية الخضراء Analysis of vegetation
 - ٦ - تحليل عينات التربة Analysis of soil
 - ٧ - تحليل عينات الماء Analysis of water
 - تحليل بيانات المخلفات Presentation of residue data
- * قائمة المراجع

تحليل المبيدات فى السمك والحياة البرية

* مقدمة

يحدث استخدام المبيدات تأثيرات رهيبة على العديد من اعداد وانواع الحيوانات . الفوائد التى تنتج من مكافحة الآفات بالمبيدات تقاس من خلال نقص تعداد الآفات اما التأثيرات الماكسة تأتي من الاضرار الى تخدنها على الكائنات الغير مستهدفة . بالرغم من الهدف المقصود فى استخدام المبيدات هو مكافحة الآفات الضارة الا ان التأثير قد يشمل الانواع الضارة والغير ضارة على السواء . ان المبيدات الحديثة تميل الى استخدام المركب الفعال ضد آفة واحدة ومن النادر ان يقتصر تعرض الكائن المستهدف لهذا المركب لذلك يمكن القول انه طالما استمر الانسان فى إستخدام المبيدات سيستمر تعرض الاسماك والحياة البرية الاخرى لهذه السموم . ان درجة التسمم والتأثيرات الضارة ستحدد تبعاً لدور الانسان فى حماية هذه الكائنات . لتحقيق هذا الهدف يجب ان تتضمن المجهودات وتعاون الجهات والهيئات المختلفة العاملة فى مجال المبيدات ومكافحة الآفات من خلال برامج منظمة ومحددة . فى هذا المقام لا بد من وضع وقبول الطرق القياسية لقياس التأثيرات الجانبية للمبيدات . سنتناول فى هذا الجزء العلاقات المتبادلة بين الاسماك والحياة البرية والمبيدات وطرق الدراسة والكشف عن مخلفات المبيدات .

* مشاكل المبيدات على الاسماك والحياة البرية :

من اكثر وأوضح نتائج تعرض المبيدات التسمم الحاد الذى يؤدى للموت فى الاسماك والحياة البرية بعد استخدام المبيدات . فى هذا الخصوص يكون المسبب والتأثير معروفين بوضوح لارتباطهما معا فى المكان والوقت . من المؤسف حدوث كوارث رهيبة على هذه الاحياء بدرجات متفاوتة تبعاً للانواع السائلة والمبيدات وغيرها من الملوثات التى تعرضت لها . تعريف وتحديد ابعاد المشاكل من اكثر الامور صعوبة طالما ان هناك تداخلات بين العوامل المؤثرة والتى تؤدى الى :

١ - تعرض متعدد لجرعات تحت مميتة من المبيدات للحيوانات خاصة للمركبات عالية الثبات .

٢ - التغيرات الايكولوجية التى تنجم من استعمال المبيدات والصعوبات فى تعريف هذه العلاقات والتدخلات تتأتى من العلاقة والتناسب المباشر فى الوقت والمساحة بين التأثيرات الملحوظة واستخدام المبيد .

٣ - التعاضد او التكبير البيولوجى للمبيدات فى البيئات الملوثة وارتباطها بالمبيدات الثابتة .

* كمثال على هذه المشكلة المعقدة ما يحدث من موت للطيور فى المستنقعات من جراء استخدام المبيدات بعيداً فى زراعات الشعير فى السنوات السابقة (Keith - ١٩٦٦) . الطيور لم تكن تزور حقول الشعير بصفة مستمرة ولكنها تسممت بشكل غير مباشر من المبيدات المستخدمة . اظهرت البحوث ان مياه الرى تحمل المبيد الى المستنقعات حيث تتراكم فى الاسماك التى تغذى عليها الطيور . الوقت او التأخير الذى يمر بين استخدام المبيد والتأثير الضار يمثل الوقت اللازم

لاتنقل المبيد وتراكمه في السلاسل الغذائية واحداثه للتأثير المميت على الطيور .

* من العوامل الهامة التي تزيد من صعوبة تقييم تأثيرات المبيد على السمك . وغيره من الاحياء البرية عدم توفر المعلومات الكافية عن الوفرة والتوزيع والبيولوجى والايكولوجى لمعظم الانواع . علاوة على ذلك فان وسائل الاحصاء والتعداد الغير مناسبة تساهم لحد كبير فى تصعب مهمة قياس التأثير الضار للمبيدات على تعداد الحيوانات . عندما يحدث نقص فى تعداد اى كائن حى او اى تأثيرات ضارة غير عادية يكون من الصعب تحديد العوامل المسؤولة ومثال ذلك ما يحدث من تأثير ضار من جراء التعرض للـ د د ت والظروف الجوية القاسية على الطيور وقد تسبب هذه العوامل قتل او فشل الطيور فى عمل العشوش ويصبح حل هذه المشكلة صعبا بسبب تداخل العديد من العوامل .

* ان نقص المعلومات عن درجة ومكان استخدام المبيد من اكبر المشاكل فى تقدير العلاقات بين السمك وغيره من الاحياء البرية والمبيدات . من الممكن الحصول على معلومات عن كميات المبيدات التي تنتج سنويا . لكن من النادر امكانية وجود سجلات عن الكميات التي تستخدم فى مكان معين ولا سبيل لذلك الا من خلال استبيان يوزع على المزارعون او الوكالات الخاصة بامان وتداول التعامل مع هذه المبيدات .

* اهمية مخلفات المبيدات :

تحليل مخلفات المبيدات يعطى دلالة كمية وكيفية عن درجة التعرض والتأثيرات السامة وتعتبر الاساس لدراسة العلاقة بين المبيدات والاحياء البرية وهى تفيد فى تتبع سقوط واستقرار المبيد والنقل لاماكن بعيدة والانهيـار فى المكونات البيئية بعد التطبيق وكذلك تعتبر دراسة المخلفات ذات اهمية خاصة فى تحديد معدل التناول والتدوير (دورة تواجدها وانتقالها بين المكونات Circulation) والتخزين والانهيـار والاخراج الذى يتعرض له بواسطة الكائنات الحية .

* تستخدم بيانات المخلفات بشكل مكثف فى مختلف الدراسات الحقلية التي تتناول تقييم التأثيرات الجانبية من جراء استخدام المبيدات . هذه المعلومات التي يعبر عنها بكميات المبيدات التي تلوث البيئة مثال ذلك ثبات المبيدات فى الغذاء وغيرها من المواد والمستويات التي توجد فى الحيوانات . هذه البيانات تستغل فى تحديد تواجد المبيدات فى الاسماك والاحياء البرية . وهذه المعلومات فى غاية الاهمية فى دراسات الاستكشاف والانتشار الوبائى لاي ظاهرة مرضية وكذلك برامج البحث الميدانية .

* بيانات المخلفات على نفس القدر من الاهمية فى البحوث المعملية . تجرى دراسات على انواع مختلفة من الاسماك والكائنات البرية بداية من اختبارات السمية وحتى الدراسات المعقدة مثل تمثيل المبيدات فى الحيوانات Metabolism وهذه تشمل :

١ - تحليل المبيد المستخدم فى حيوانات التجارب .

٢ - تحليل عينات الاعضاء الحيوية المختلفة والانسجة .

٣ - تحليل البيض ونواحي الاجراج .

حتى تكون هذه الدراسات ذات قيمة يجب تعريف وتحديد كميات المخلفات ونواحي إنبهارها كما يجب ربط نتائج التحليل الخاص بالمخلفات مع الاختبارات البيولوجية لمعرفة العلاقة بين التعرض والتأثيرات الملحوظة .

تعرض السمك والاحياء البرية لمبيدات الآفات

* ١ - مصدر التعرض

قد تتعرض الاسماك والاحياء البرية للمبيدات بطرق متعددة مثل : استخدام هذه المواد في اماكن معيشة هذه الاحياء ، حركة الحيوانات الى الاماكن التي يستخدم فيها المبيدات ، انتقال المبيدات بواسطة الهواء والماء والحيوانات الى اماكن لا تستخدم فيها . ان الجزء الاكبر من تلوث الاسماك والاحياء البرية بالمبيدات تنجم من الاستخدام الزراعي لهذه المواد بسبب تنوع المزروعات وتعدد الآفات مما يستوجب تكرار عمليات مكافحة المبيدات مما يسبب تكرار تعرض هذه الحيوانات لمختلف انواع الكيماويات .

* تعتمد الاحياء البرية والاسماك في وجودها على الغذاء وكذلك الغطاء النباتي مما ادى الى تأثر تعداد هذه الاحياء بمختلف العمليات الزراعية بما فيها المبيدات . هذا الموقف يستدعي التعاون وتضافر الجهود بين البيولوجيون ورجال الزراعة للوصول الى طرق مكافحة مناسبة للآفات باقل ضرر ممكن على الحيوانات غير المستهدفة . هذا يستدعي استخدام اقل المبيدات اضراوا وعند الحاجة فقط لتقليل الفقد الذي تحدثه الآفات .

* تستخدم المبيدات بواسطة العديد من الجهات الحكومية والخاصة تحت رقابة صارمة وشديدة لضمان اتباع التوصيات وتحقيق الاهداف دون اية تأثيرات ضارة على البيئة بشمول اكبر . بالطبع تستخدم نفس المبيدات الزراعية في مكافحة آفات الغابات ولكن عدد مرات استخدامها اقل عادة معاملة واحدة في العام في مساحة اقل من ١٠ 2 من جملة مساحات الغابات (Benedict and Baker - ١٩٦٣) . التلوث الذي تحدثه المبيدات في الغابات تؤثر على السكان وكذلك الحيوانات المهاجرة وكذلك تعتبر مصدر لتلوث المجارى المائية . ان استخدام الطعوم السامة لمكافحة القوارض في الغابات ذات تأثير بسيط بالمقارنة بالمبيدات التقليدية .

تستخدم مبيدات الآفات في مكافحة الآفات التي لها علاقة بالصحة العامة خاصة ناقلات الامراض مثل مكافحة بعوض الملاريا والبعوض في مناطق انتشار مرض النوم حيث تكافح القوارض الناقلة لمسببات الطاعون . ان التوسع في استخدام المبيدات المتخصصة لبيت Abate من خلال البرامج القومية والعالمية ادت الى تأثيرات كبيرة على الاسماك وكذلك الاحياء البرية وقد ساعد

ذلك في التغلب على مشكلة مقاومة الافات لفعل المبيدات الكلورينية . تستخدم المبيدات الفوسفورية الآن بمعدلات ٠.١ - ٠.٢ رطل / اكر لمكافحة يرقات البعوض . هذه المعدلات المنخفضة لا بد وان يكون تأثيرها الضار على هذه الاحياء قليلا بالرغم من ان الدراسات الحديثة اثبتت حدوث موت في البط وغيره من الطيور المائية عندما استخدم الباراثيون بمعدل ٢ رطل / اكر .

* ان استخدام المبيدات في البيوت والحدائق تمثل مصدر اخر لتلوث الاسماك والاحياء البرية تستخدم كميات كبيرة من المبيدات حول المساكن المأهولة بالسكان في المناطق الريفية والحضرية مما يؤدي الى تعرض العديد من الطيور والثدييات لهذه المبيدات . عندما كانت تستخدم المبيدات الكلورينية ومركبات الزونيخ والزيق في الحدائق حلت اضرار شديدة على الحيوانات البرية . في العديد من الحالات يصعب تعريف مصادر المبيدات خاصة في حالة المبيدات الثابتة التي تنتقل من مكان استخدامها الى اماكن اخرى وهذا قد يحدث بواسطة الماء والهواء واجسام الحيوانات من الخارج او الداخل .

* ٢ - انواع التعرض

قد يكون تعرض الاسماك وغيرها من الاحياء البرية مباشرا او غير مباشرا . التعرض المباشر Direct exposure يعنى التلامس مع الكيماويات خلال او بعد فترة قصيرة من المعاملة . وهو يستخدم كذلك من جراء التناول او الامتصاص من خلال الملامسة المستمرة والمباشرة مع المبيدات الموجودة في الهواء او مختلف المكونات البيئية الاخرى . من امثلة التعرض المباشر استهلاك الفئران للطعوم المحتوية على الحبوب المعاملة بالاستركنين او لتنفس العصافير لهواء محتوى على الباراثيون او امتصاص السمك للتلدين خلال الخياشيم .

التعرض الغير مباشر او الثانوى Indirect ينتج عادة من التناول الفموى للكائنات التي سبق تلوثها بالمبيدات هذا النوع من التعرض يحدث عندما يمر المبيد من حيوان لآخر في السلسلة الغذائية . الكيماويات التي تعنى بالتعرض الغير مباشر هي تلك التي تتميز بالثبات النسبى العالى وغالبا تشترك نواتج تدهورها في هذا التعرض . مثال ذلك مرور الد د د ت من انثا الطيور الى الصغار خلال البيض .

٣ - درجة التعرض

يؤثر مستوى ومرات ودوام التعرض للمبيدات على الضرر الذى تحدثه هذه الكيماويات على الاسماك وغيرها من الاحياء البرية . هذه العوامل تحدد ما اذا كان التعرض سيحدث موت او تأثير طفيف او لا تأثير ليكن معلوما ان تأثير المبيد على الحيوانات لا يتوقف فقط على درجة التعرض ولكنه قد يتضمن كذلك بلوك المبيدات في الحيوان حيث انها تتعرض للانهيار والاخراج وبعضها مثل الملاثيون تتكسر بسرعة وتفقد سميتها . اذا كانت درجة التعرض معبرا عنها كما سبق القول

بالمستوى والتكرار والدوام اكبر من مقدرة الحيوان على تكسير المبيد وخفض المخلفات بنجم خطر على الحيوان .

* تكون درجة التعرض ذات اهمية خاصة عندما يكون تأثيرات المبيد ذات صفة اضافية او تخزن المخلفات بصفة مؤقتة فى الانسجة . اذا لم تكن الفترة ما بين التعرض المتكرر كافية لحد السماح للحيوان ان يشفى من التأثيرات السابقة للتكرار السابق تحدث التأثيرات الاضافية والضرر للحيوان . اذا زاد معدل التناول عن معدلات الانهيار والتخلص من المبيد الذائبة فى الدهون قد تتجمع كميات زائدة فى الانسجة الدهنية وتصل الى مستويات مرتفعة . هذه التأثيرات قد تحدث عندما يضطر الحيوان لاستغلال الدهون المخزنة المحتوية على هذه التركيزات قد لا تؤثر هذه المستويات المنخفضة بشكل واضح على الحيوانات الملوثة ولكنها قد تكون ذات اهمية كمصدر للمبيدات فى مكونات السلاسل الغذائية .

** سمية وضرر مبيدات الافات :

* تعبر السمية Toxicity عن كمية المبيد اللازمة لاجداث استجابة معينة فى الحيوان مثل الموت او اى تفاعل فسيولوجى تحت ظروف قياسية . قد يحدث تعرض الحيوانات للسم بطرق متعددة ويحبر عنها بالجرعة القاتلة Lethal dose للتحيبات ، التركيز القاتل Lethal concentration فى حالة السمك والماء او التركيز الفعال Effective conc. فى الماء التى تقيد نمو الصدفة فى الاسماك . التعبير عن السمية قد يكون معينا بعدد مرات او الفترة التى يتعرض فيها الحيوان للسموم . يستخدم عامل الوقت بشكل واسع عندما تتعرض الحيوانات للمبيدات بصفة مستمرة مثل السمك فى الاحواض المحتوية على المبيد او الثدييات فى حوض يحتوى على غازات منفردة من المبيدات . السمية الحادة Acute toxicity تعنى ما يحدث للحيوان من التعرض للسم مرة واحدة ويقاس تأثيره بعد فترة قصيرة من الوقت . التسمم المزمن Chronic toxicity تحدث بالتعرض المتكرر او المستمر خلال فترة طويلة التى تتراوح من ايام الى سنوات . تقيد بيانات السمية فى تعريف الضرر النسبى لمختلف المبيدات ومقدرتها على قتل او اضعاف الحيوانات . السمية الاساسية inherent toxicity من العوامل الهامة فى تحديد التأثيرات على الاحياء البرية تحت الظروف الحقلية .

* يرتبط قياس الضرر الفعلى للمبيد مع الاسماك والاحياء البرية الاخرى بالتأثير الذى يحدث بعد استخدام المبيد فى الحقل . اذا كانت المبيدات عالية السمية تثبت فى البيئة لعدة ساعات فقط قد يكون ضررها على الحيوانات قليلا . اذا كان التعرض للسم قليلا او معدوما . على العكس من ذلك اذا كانت المبيدات متوسطة السمية ولكنها ثابتة فى الحقل وتتراكم فى اجسام الحيوانات يتوقع ان يكون الضرر على الاسماك والحيوانات البرية كبيرا . لا شك فى ان هناك العديد من العوامل المتداخلة التى تحدد الاضرار الحقيقية التى تحدثها المبيدات ولكن السمية والثبات هى اكثر هذه العوامل وضوحا .

* الخواص البيئية والحيوية للبيئات والأوساط المعاملة أو الملوثة بالمبيدات ذات دور فعال ومؤثر فى تحديد اضرار المبيدات . يختلف تفاعل المبيدات مع الاوساط المختلفة حيث انها ذات قابلية قوية لتحلل محل العديد من المكونات البيئية . بصرف النظر عن الخواص الطبيعية الاساسية قد تسبب المبيدات مشاكل خطيرة فى بعض البيئات مثال ذلك ان بعض المبيدات الفوسفورية العضوية قد تستمر طويلا فى بعض البيئات بينما تختفى بسرعة فى اوساط بيئية اخرى . قد توجد مستويات عالية من مخلفات المبيدات الكلورينية العضوية فى بعض البيئات دون ان تؤثر على الحيوانات بينما وجود كميات صغيرة من هذه المركبات فى اوساط اخرى تتركز سرعيا وتحدث تأثيرات رهيبة .

* يتطلب الاستخدام المناسب للمبيدات فهم كامل لتأثيرات هذه المركبات فى البيئة وهذه تتضمن التأثيرات الايكولوجية وكذلك حساسية الانواع المستهدفة وغير المستهدفة من الكائنات الحية . عندما تتوفر معلومات مؤكدة عن العوامل المؤثرة على السمية والضرر يمكن اختيار المبيدات التى تحقق مكافحة مناسبة مع اقل الاضرار .

** التأثيرات المباشرة وغير المباشرة لمبيدات الآفات

* للتبسيط نقول ان التأثيرات المباشرة تتضمن التأثير على السمك والاحياء البرية التى تنتج من الفعل السام للمبيدات اما التأثيرات غير المباشرة تتضمن تلك الناتجة من التغيرات البيئية التى تحدث من جراء استخدام المبيدات . التأثيرات المباشرة تتضمن تلك التى تحدث من التعرض الحاد والمزمن للمبيدات وهذه تشمل تلك التأثيرات التى تنجم عن الملامسة المباشرة للمبيدات وتلك الناجمة عن تمثيل المخلفات فى الغذاء والماء . تختلف التأثيرات من الموت او تعطيل الوظائف الفسيولوجية ويدخل فى نطاق هذا النوع من التأثيرات ما يحدث من التعرض الثانوى .

* التغيرات البيئية التى تحدثها المبيدات تؤدى الى التأثيرات الغير مباشرة للمبيدات . بعض انواع الكائنات الحية تستطيع ان تتغلب على هذه الظروف الجديدة وتكيف نفسها ، بينما البعض الآخر والتى لها عادات خاصة ومتطلبات محددة تتأثر بآفة تغيرات بيئية بسيطة لا خلاف على حدوث التغيرات البيئية بعد استخدام المبيدات اما انعكاس ذلك على الحيوانات قد لا يكون واضحا او مؤثرا . ان استخدام مبيد الحشائش ٤,٢ - د يقضى على غذاء بعض الحيوانات البرية . ومن ثم يقل التعداد بسبب نقص الغذاء كما ان استخدام هذا المبيد على بعض الحشائش يزيد من محتواها من النيتريت مما يجعل هذه النباتات سامة للابقار (Stahler and Whiteheat - ١٩٥٠) . وهذه الأمثلة توضح تأثير المبيدات على العلاقة بين النباتات والحيوانات . قد يعمل أسلوب تحديد نمو النباتات المائية على زيادة تكاثر الاسماك كما ان للمعاملة لمرة واحدة بالمبيدات ستحدث تأثيرات محدودة على البيئة بعكس الاستخدام المتكرر . احيانا يشير زيادة الطيور الى زيادة الحشرات التى تغذى عليها ومن ثم يمدد التعداد الى ما كان عليه قبل المعاملة بسبب وفرة الغذاء .

* ان تكرار استمرار استخدام المبيدات لا بد وأن يؤدى الى نقص او اختفاء بعض انواع

الكائنات الحية الغير مستهدفة فى المناطق المعاملة بسبب التلوث البيئى .

**** دراسات عن المبيدات والاسماك والاحياء البرية :**

* نعى فى هذا الجزء المشاكل التى يحدثها استخدام المبيدات على الاسماك والاحياء المائية . يمكن الوصول لحل هذه المشاكل بصورة مرضية اذا امكن فهم سلوك وتأثيرات هذه المبيدات وعلاقتها بالعوامل البيئية . ان دراسة وتقييم تأثير المبيدات على الاسماك والاحياء البرية تحت الظروف الحقلية عملية معقدة بسبب تداخل العديد من العوامل والمتغيرات فيها . يمكن دراسة عناصر المشاكل الحقلية تحت ظروف محددة ومتحكم فيها فى المعمل لتحديد السمية الاساسية والعلاقات البيئية وتأثير المبيدات اذا لم تجرى هذه الدراسات من خلال النماذج المعملية محاكاة ما يحدث فى الحقل تكون نتائج الدراسات مضللة وربما بدون قيمة .

* لحل معظم مشاكل المبيدات يوصى باجراء دراسات حقلية مصغرة فى البداية على بعض نواحى وعوامل المشكلة حتى تتضح الصورة ويمكن تعريف وتحديد بعض النقاط الصالحة للتجارب المعملية والخطوة الثانية تتمثل فى دراسة هذه العوامل تحت ظروف متحكم فيها والثالثة تتمثل فى تحديد امكانية تطبيق هذه الاختبارات المتحكم فيها فى التجارب الحقلية . فى الغالب تجرى سلسلة التجارب معا بداية من الدراسات التوكسيكولوجية والتجارب الحقلية المتعددة وتحليل المبيدات والتغيرات البيئية التى يحدثها استخدام المبيدات .

* التجارب المعملية والحقلية لازمة لتحديد التأثيرات الجانبية الضارة للمبيدات ومنها نحصل على انماط مختلفة من النتائج التى ترتبط مع بعضها واستقراء هذه النتائج جيدا يؤدى للحصول على معنى وتقييم دقيق للضرر .

١ - الدراسات المعملية

من الشائع اجراء تجارب السمية الحادة للمبيدات على الاسماك والاحياء البرية الاخرى لتحديد التأثيرات القاتلة والتحت قاتلة النسبية . يستخدم فيها حيوانات تجارب ذات احجام مختلفة تتراوح من اللافقاريات الميكروسكوبية وحتى الغزلان . يتوقف اختيار الحيوانات على الاستخدام الفعلى للمبيدات وانواع اماكن المعيشة التى تعامل وتوفر الحيوانات وسهولة تربيتها وحمايتها . عادة تقاس سمية المبيدات على اساس ما تحدثه من موت على الحيوانات من جراء تعرضها مرة واحدة لكميات من هذه الكميات . الحيوانات التى تستخدم فى تجارب السمية المزمنة Chronic يجب ان توضع فى المعمل فى حيز محكم لفترة طويلة ويقدم لها غذاء فى بيئات صناعية وعند اختيار انواع هذه الحيوانات يجب اخذ الثبات النسبى للمبيدات فى الاعتبار وكذلك البيئة الغذائية فى اماكن معيشة هذه الحيوانات والحساسية النسبية لهذه الحيوانات للمبيد المستخدم والعلاقة بين الحيوان وغيره من الحيوانات فى السلاسل الغذائية . يمكن تحقيق الكثير من اهداف التجارب الخاصة بالسمية الحادة وتحت الحادة باجراء هذه الاختبارات على الحيوانات الليفة المرناة والموجودة

فى البئشة . الانواع المراه والمكيفة تحت ظروف الحظائر تكون اقل تأثرا للضغط الخاصة بالحيز المحكم بدرجة اقل من الحيوانات البرية فى الامر . يسمح باجراء دراسات اكثر عمقا عن التأثيرات على السلوك الفسيولوجى .

* المعلومات الاساسية عن التأثير تحت ممت للمبيدات على السلوك والتناسل والفسيولوجى الخاص بالحيوانات البرية يمكن الحصول عليها بشكل افضل وادق تحت الظروف المعملية . من اهم مميزات هذه التجارب المعملية امكانية تطبيقها واعادة التحكم فيها كما يمكن تقدير استجابة حيوانات الاختبار وتسجيل هذه الاستجابات بسهولة ويسر كما يمكن اخذ العينات لتقدير مخلفات المبيدات بامكانيات كبيرة . العدد الضخم من الاختبارات والملاحظات الضرورية المطلوبة للحصول على المعلومات الخاصة بالسمية تتطلب تجارب تحت ظروف متحكم فيها وهذه لا تتأنى (لا فى المعمل .

* من المعلوم والشائع ان تجارب السمية الحادة والمزمنة على الاسماك والاحياء البرية تصمم بما يمتشى مع الطرق القياسية المتعارف عليها فى التوكسيكولوجى وعلم الصيدلانات . ليس من الضرورى تشريع الحيوانات المطلوبة فى الطرق الاخرى . هذه التجارب تمكس الاضرار التى قد تنجم من جراء استخدام المبيدات فى الحقل .

٢ - الاختبارات التى تحاكي الحقلية Simulated :

التجارب التى تحاكي ما يحدث فى الاختبارات الحقلية تصمم بحيث تقارب الموقف والظروف الحقلية وهى تساعد فى تكامل النتائج الخاصة بالدراسات المعملية والحقلية . فى هذه الاختبارات يمكن تعريض الحيوانات للمبيدات لفترة تقترب من التعرض القعلى المتوقع تحت ظروف التطبيق الفعلى واعطاء الحيوانات مساحة كافية تمكنها من التغذية والحركة العادية . الدراسات تحت الظروف المقلدة للحقل تفيد فى دراسة رد فعل الحيوانات للأنواع المختلفة من التعرض للمبيدات مثل التعرض للطعوم السامة أو المبيدات المخببة أو تلوث التربة والمجموع الخضرى . يمكن تقييم هذه العوامل بطرق مختلفة مثل تأثير اللون على طرد وتقليل استهلاك الحيوانات للطعوم وتأثير وجود الجريش أو الماء على معدل قبول طعم الحبوب السام أو المبيد الحشرى المخبب .

* تحديد العوامل التى تؤثر على ثبات وسلوك وتأثير المبيدات بعد المعاملة ذات اهمية كبيرة تتطلب التجارب التى تحاكي الحقلية امكانيات تمكن من التحكم فيها وتعظيم دور المتغيرات الهامة التى تؤثر على حدوث اختطار المبيدات فى الحقل . لذلك تجرى هذه التجارب تحت ظروف طبيعية وبيولوجية معروفة لتحديد تأثير المبيدات على مختلف انواع البيئات وامكن المعيشة .

٣ - الاختبارات الحقلية

تقسم الاختبارات الحقلية الى ثلاثة مجموعات رئيسية هى الاستكشاف والحصر Research
والبحث Surveillance and monitoring :

(أ) الاستكشاف Monitoring :

تتضمن برامج الاستكشاف الخاصة بالسماك والحياة البرية القياس والكشف الدورى لمخلفات المبيدات فى أنواع الحيوانات المختارة وعلاقتها بالبيئة . الغرض من هذه البرامج تحديد ما اذا كانت درجة التلوث بالمبيدات تتغير مع مرور الوقت وتحديد الحيوانات التى تحتوى اجسامها على كميات عالية من المخلفات كذلك تحديد المناطق التى بها تلوث عالى . فى حالة الكشف عن مخلفات عالية يجب دراسة ما اذا كانت هذه المستويات العالية متحدث اضرارا عالية على الحيوانات . لا يناسب الناحية العملية تحليل اعداد كبيرة من العينات لذلك تختار مفاتيح او ممثلات من الحيوانات لتجارب الاستكشاف . يبنى الاختيار على معنوية التواجد البيولوجى للحيوانات فى النظام البيئى ووفرته وتواجده المستمر كلما كان هناك حاجة لاختذ العينات . فى برامج الاستكشاف الوطنية يجب ان تتضمن نوع او نوعان من كل من الطيور والثدييات وسماك المياه العذبة وسماك البحر واصلد القشريات . اما برنامج الاستكشاف على المستوى الاقليمى تتضمن أنواعاً مختلفة من العينات

* تطور برامج الاستكشاف لقياس التلذذب فى مستويات المبيدات فى بعض الأنواع الحيوانية . مثال ذلك ما جرى فى كاليفورنيا بامريكا حيث اجرى مشروعان الاول تناول استكشاف معنويات مخلفات المبيدات فى الطيور والثانى هو قياس المخلفات فى بيض الطيور المائية والجارية .

(ب) الحصر Survey :

هناك نوعان من برامج الحصر .. الاول يتضمن تقييم التأثيرات الجانبية التى تحدث من استخدام المبيدات والثانى يتضمن البحوث الخاصة بتقدير أسباب الموت عند استخدام المبيدات . عادة تجرى تجارب الحصر فى المناطق التى تطبق المبيدات فعلا وهى تجرى كعملية مكملة ومتناسقة مع كافة الآفات وهى تؤكد للعامة ان اعتبارات تقييم الضرر مآخوذة فى الحسبان بصورة جدية . تؤدى هذه الدراسات الى العناية والحرص فى اختيار المبيدات والتطبيق المناسب مما يقلل من الضرر . هذه الاختبارات والتقييم تتضمن : (١) استخدام الحيوانات فى الاقفاص لتحديد التأثيرات البيولوجية لاستخدام المبيدات ، (٢) ملاحظات عن التأثير على الحيوانات البرية ، (٣) جمع وتحليل العينات الحيوانية لتقدير مستوى المخلفات .

فى تجارب الحصر لتحديد سبب الموت فى الحيوانات البرية تتطلب تصميم الاختبار المبني على اساس فرض ان المبيدات هى السبب لكن يجب بل من الضرورى اخذ المسببات الاخرى للموت فى الاعتبار . الفقد بسبب الاصابات المرضية قد يتداخل مع المبيدات المسببة للموت بسبب تشابه الاعراض على الحيوانات التى تسممت . ان فقد سموت الطيور والثدييات بسبب الأخطار الميكانيكية وموت الاسماك بسبب نقص الاكسجين مجرد امثلة للعوامل الاخرى الواجب اخذها فى الاعتبار .

جـ (البحث

تجمعت العديد من المعلومات عن تأثيرات المبيدات على الاحياء البرية من الدراسات الحقلية والمعملية التي اجريت . تجرى الدراسات التوكسيكولوجية والبيوكيميائية والفسيولوجية فى المعمل اما البحوث الحقلية تأخذ فى الاعتبار موت الاسماك والاحياء المائية لاستخدامات معينة من المبيدات . تجرى البحوث الحقلية كذلك لدراسة التأثيرات الجانبية للمبيدات وتوزيع وسمية المبيدات فى الازوساط البيئية (Keith and Mulla - 1966) . تفيد المبيدات الملعمة إشعاعياً فى هذه الدراسات خاصة تلك التى تتعلق بتوزيع المبيدات فى المكونات البيئية المختلفة . فى احدى الدراسات التى استخدم فيها ال د د ت المشع فى ذرة الكلور (كل ٣٦) فى احد المستنقعات ثم تقدير تواجد المبيد فى النباتات والحيوانات والتربة والماء لاقفاء الضوء عن انتشار وتوزيع المبيد فى هذه البيئة . حدث انتقال سريع للمبيد فى النباتات والحيوانات ومن المثير للدهشة تواجد مستويات عالية من ال د د ت فى النباتات الى تنغذى عليها الاسماك وصلت الى ٤٥ - ٣٤٥ جزء فى المليون . كذلك تجرى دراسات عن تأثير المبيدات على سلوك الحيوانات والوظائف الفسيولوجية وديناميكية وحركية مجموع الحيوانات .

أخذ العينات لتحليل مخلفات المبيد

* كل بحث او دراسة عن المبيدات ذات اهداف خاصة يمكن تحقيقها بجمع وحفظ انواع مناسبة من العينات . يعتمد طبيعة العينات التى تجمع على طبيعة العلاقة بين المبيدات والاحياء البرية كما ان التدلول المناسب ضرورى لتفادى تلوث العينات او اتيهاؤها او أى فقد فى المبيدات . فى معظم البحوث المتعلقة بتحديد التأثير القاتل للمبيدات يستخدم عدد قليل من حيوانات التجارب كما يكون التعرض للمبيدات مباشرا ومؤكدا . يتضمن التقييم اخذ عدد محبوس بل اقل ما يمكن من العينات للتأكد من وجود المبيد كذلك اخذ الانسجة من عدد قليل من الحيوانات بينما تؤخذ عينات عديدة من المكونات البيئية المتوقع حدوث تلوث فيها من جراء استخدام المبيدات . اذا لم يكن وجود المبيد واضحا تجمع عينات من الافراد التى تأثرت والتى لم تتأثر بالمبيد من نفس النوع لجعل امكانية مقارنة مستويات المخلفات متاحة . يمكن استخدام عينات اضافية لتقدير الاهمية النسبية للمبيدات والقاء الضوء على العوامل المرضية التى سببت الموت .

* يعنى التقييم فى التجارب المصممة لهذا الغرض العمل على نوع واحد او قليل من الانواع المختبرة التى تتعرض بشكل واضح او يكون تأثيرها واضحا بالمبيد مثال ذلك فى حالة الموت المباشر تجرى التقييم فى العادة على مبيد واحد فقط . بالنسبة لبرامج التطبيق الفعلى يجرى العمل بمبيد واحد فقط هو الذى يؤخذ فى الاعتبار بينما التأثير الذى يحدثه يقاس فى مساحات واسعة قد تحتوى على عدد كبير وانواع مختلفة من الحيوانات . متطلبات تقييم الاداء وخطورته لا تتضمن دراسة التأثيرات على الاسماك والحياة البرية . فى العادة تؤجل المعاملات حتى تصبح انواع الافات اكثر حساسية بما يحدد مواعيد التطبيق . معظم برامج التقييم تتضمن جمع البيانات قبل وبعد

التطبيق الفعلي . اذا لم يحدد ميعاد التطبيق والاماكن التى ستعامل لا يمكن بل يصعب اجراء تقييم التأثيرات الجانبية للمبيدات . من الاهمية تحديد ومعرفة المعلومات الخاصة عن مكان وحجم المساحات الى ستعامل لوضع وتصميم تجارب التقييم خاصة عندما يبرأ نتائج معنوية احصائيا . فى هذه الحالة تودى معاملة اماكن لم تتحدد من قبل الى الفشل فى الحصول على النتائج المطلوبة او ذات قيمة احصائية محدودة .

* دراسات التلوث البيئى قد تؤكد من خلال تقييم موت الاحياء البرية ومعرفة تأثير المبيدات على تناسل الحيوانات او السلوك او بالتراكم الزائد للمخلفات فى الحيوانات . عادة يكون هناك دافع لدراسة تأثيرات العديد من المبيدات ومن ثم تكون هناك حاجة للعديد من انواع التحليل . حيث ان التلوث قد يحدث فى مدى واسع من المواد الحيوية والطبيعية فان الجمع الأولي يفيد فى وصف طبيعة ودرجة التلوث . المبيدات ذات قابلية لبعض الاوساط وتثبت طويلا فى البعض عن الاخر . الكائنات الحية التى ترتبط او توجد بالقرب من المواد الملوثة تتعرض بدرجة كبيرة للمبيدات . المعلومات الخاصة بالعلاقات الحيوية تفيد كثيرا فى تعريف اى من المكونات البيئية يجب اخذ عينات منها . فى المقابل فان المخلفات فى الحيوانات والمكونات البيئية تعطي نتائج توضح العلاقات البيئية المشكوك فيها كما تعطي بيانات جديدة عن السلاسل الغذائية والظواهر الحيوية .

* ان اهداف معظم برامج الاستكشاف البيئى تتمثل فى تسجيل التغيرات فى مستويات المبيدات التى تحدث خلال فترة زمنية معينة . يجب توحيد وقياسية طرق جمع وتداول العينات لدرجة تمكن من اخذ عينات ممثلة للواقع وتحقق اهداف الدراسة . حيث ان العديد من المشتغلين بالبرامج قد يشتركوا فى اخذ العينات لذلك كان من الضرورى وضع تعليمات محددة واضحة فى هذا الخصوص .

أ) التخطيط لبرنامج العينات

* يجب ان يسبق اخذ العينات وضع برنامج دقيق لتحليل العينات تتضمن الاهداف المحددة بناء على حصر للدراسات السابقة عن العلاقة بين المبيدات والحياة البرية . لتحقيق الاهداف يجب ان يشارك فى وضع الخطة متخصصون فى مختلف الفروع بما فيها الكيمياء والتوكسيكولوجى والامراض والبيولوجى . من اهم محدثات تنفيذ الخطة الموضوعية مدى توفر الميزات ومقدرة المعامل لتداول وتحليل العينات . يحدد عدد العينات الممكن تحليلها العديد من العوامل التى تتضمنها اى دراسة مثل انواع الحيوانات والجنس والعمر . كذلك الانسجة التى تفحص وانواع الاوساط البيئية وتوالى وتكرار اخذ العينات . فى الغالب يتم اخذ العينات خلال فترات زمنية محدودة لان توفر هذه العينات يتوقف على ميعاد التطبيق وهجرة والنشاط الموسمى للكائنات ومواسم التكاثر وتحلل الجثث بعد الموت . حيث ان هناك فترة ما بين اخذ العينات واستكمال التحليل يصبح مطلوبوا ان تجمع عينات اضافية زيادة عما هو مخطط بحيث تخزن وتحفظ وقد تحلل اذا جد جديد او دعت ظروف معينة لذلك . يجب ان تكون طرق اخذ العينات وخطوات تجهيزها

قياسية وكاملة لأية تجارب مستقبلية . ان بحوث التأثير القاتل للمبيدات على الاسماك والاحياء البرية الاخرى تتطلب فعل لحظي وتصرف سريع ويمكن الاستفادة من التجارب السابقة .

* تؤخذ العينات بصفة متكررة للحصول على بيانات عن المخلفات التى تنتج من عمليات تطبيق المبيدات . من المعبىب ان البيانات والتقارير الصادرة من مشروعات التأثير الجانبى للمبيدات على الاسماك والطيور قليلة للغاية كما ان هناك نقص فى طرق تقييم هذه الآثار . من حسن الحظ ان بيانات المخلفات الناجمة من التجارب للمعملية والحقلية كافية فى معظم الحالات بما يمكن من استنتاج التأثيرات الكلية للمبيدات . يفضل اجراء عمليات التحليل على العينات المجموعة مباشرة او خلال فترة قصيرة من الجمع والتجهيز للوقوف اولا باول على موقف المخلفات وتحديد الخطوة التالية بدلا من الجمع العشوائى والتكرار وما يتطلبه من جهد ووقت ومال .

ب) احجام العينة

عدد العينات وكميتها التى تجمع يتوقف على عدد التحاليل التى ستجرى ومستوى التلوث فى العينة والمستوى المطلوب للتقدير والكشف عن المخلفات . كل طريقة للتحليل الوصفى الكمى للمبيد تتطلب وجود حد ادنى من كمية المادة الكيميائية محل التقدير . عندما يتقرر تحليل المادة بعدة طرق او فى معامل مختلفة يجب ان يتناسب حجم العينة مع متطلبات الطرق والمعامل كما يجب ان تجهز بتجانس دقيق قبل تقسيمها الى تحت عينات للجهات المعنية . العينات الحيوانية يجب ان تحتوى على الاقل من ٢ - ٢٥ جرام وفى بعض الحالات تكون عينة مقدارها ١ جم دهن مطلوبة . عينات النبات والتربة والراسب وهى سهلة الحصول عليها يجب ان تحتوى على ١٠٠ - ٥٠٠ جم على الأقل . عادة يؤخذ واحد جالون ماء للكشف عن مخلفات المبيدات وهناك طرق عديدة لجمع عينات الماء .

* اذا كانت ستجرى عدد قليل من التحليلات يكون مطلوبا تجهيز من ٥ - ١٠ تحت عينات من نفس المواد لكل عينة واحدة للتحليل . النتائج المتحصل عليها تمثل متوسط التلوث فى كل تحت عينة فردية ولكن الاختلافات بين مستويات المخلفات لا تقدر بهذا الاسلوب الذى لا يناسب من الناحية العملية فى تقييم تأثير المخلفات على وظائف الكائنات الحية كل على حدة ولكنه يفيد فى وصف متوسط المخلفات فى السمك والاحياء البرية والبيئات الموجودة فيها . اذا كان العينات تجمع بهدف تعريف الكائنات الميكروسكوبية فى الماء او تقدير الوزن الجاف لاحتوى الدهن فى الانسجة يكفي بجمع عينة مزدوجة لهذه الأغراض وكذلك تقدير المخلفات .

جـ) اوزان العينة

* يختلف المحتوى المائى للعينات المائية والتربة من موسم لآخر تبعا لظروف العينة وفترة التخزين . مستويات المخلفات يجب ان تحدد على اساس الوزن الجاف لمادة العينة او محتوى الرطوبة للعينات الطرية . هذه تمكن من المقارنة المقبولة للمخلفات فى العينات ذات المحتويات المختلفة من الرطوبة .

العينات التي تجمع بغرض تقدير محتوى الرطوبة يجب ان توزن وقت الجمع على فترات متتالية حتى يثبت الوزن ولا يحدث فيه اى فقد . حيث ان محتوى الرطوبة قد يتغير خلال التخزين فان اوزان العينات يجب ان تؤخذ مباشرة قبل التحليل .

* مخلفات المبيدات فى العينات الحيوانية تحسب على اساس الوزن الجاف للعينات اذا كان سيعبر عنها بجزء فى المليون . بينما فى التدريب والتقدير العملى لمستويات المخلفات فى انسجة الحيوانات الفقارية تحسب المخلفات على اساس الوزن الطرى . اذا اخذ اوزان العينات من العينات الطازجة سيحدث اختلاف بسيط فى محتوى الرطوبة ومن ثم لا يتأثر مستوى المخلفات . اذا كان كل الحيوان او كل الاعضاء الداخلية مثل مخ الطائر سيتعرض للتحليل يمكن التعبير عن مستوى المخلفات الموجودة بوحدة ميكروجرام لكل عينة بصرف النظر عن وزن العينة . عند تمثيل ومناقشة النتائج يشار الى ان اساس الحساب هو وزن العينات . يفيد اخذ اوزان النباتات والحيوانات وغيرها من المكونات البيئية عن وضع الوفرة النسبية او كتلة مادة العينة الموجودة فى الوسط . هذه الأرقام ذات اهمية خاصة فى تقدير الكمية الكلية من المبيدات فى النظام البيئى .

د) تناول وتخزين العينة

* يفضل اجراء تشريح الحيوانات فى المعمل حيث الامكانيات متاحة . فى بعض التجارب الحقيقية يكون من الافضل اخذ العينات الخاصة المطلوبة للتحليل فقط . معظم العينات يمكن تجهيزها بكفاءة وتعبأ فى الحقل بشرط العناية بخطوات التجهيز . يجب التخلص من الماء الزائد الموجود على سطح العينات قبل التجهيز . يجب الحرص فى حالة العينات من البيئات المائية بما فيها النباتات والرواسب واللافقاريات للتأكد من عدم جفافها قبل وزن العينات المطلوبة للتحليل . بعد الوزن يجب تخزين كل عينة منفصلة فى رقائق الالومنيوم او اى اناء زجاجى مناسب . اى مخلفات تنقل للالومنيوم او الزجاج يمكن استرجاعها بسهولة بالمذيبات العضوية . العينات الملقوفة فى الالومنيوم يمكن ان توضع فى اكياس بلاستيكية او ورقية للتخزين . يجب الحرص لمنع العينات من الملامسة المباشرة للبلاستيك او الورق او السطوح الشمعية خلال التخزين حيث ان المخلفات قد تتجمع على هذه السطوح وقد يصعب استرجاعها . المواد البلاستيكية والشمعية قد تمسك وتدمص على العينة ومن ثم تتداخل مع التحليل .

* من افضل الطرق لتعريف العينات وضع بطاقات مغطاة برقائق الالومنيوم وتكتب البيانات بالقلم الجاف او الرصاص لانه يدوم تحت ظروف الرطوبة . الحيوانات الكاملة او الاكياس المختوية على العينات تعرف بعلامة من الورق المقاوم للماء او ببطاقة يكتب عليها بالقلم الرصاص وهذه توضع داخل كيس اخر لحماية البيانات من الرطوبة . يجب وضع البيانات فى وضع يمكن من قراءتها مع تجفيف العينة . دون اللجوء للتسييح . يجب اعداد العينات المجمدة وتجهيزها بعد الجمع بقدر الامكان . الحرارة العالية والاشعة فوق البنفسجية والتحلل البيولوجى قد تؤدى الى انهيار معظم مبيدات الآفات . فى الحقل يجب وضع العينات فور الحصول عليها فى صناديق معزولة محتوية

على ثلج أو ثاني أكسيد الكربون أو في ثلاثة متتلة . حتى نضمن عدم انهيار العينات وتعرضها للفقء يجب أن تحتفظ في درجة حرارة - ٢٠ °م أو أقل . لا يحدث أى فقد مؤثر للمبيدات الكلورينية العضوية على هذه الدرجة اما العينات المحتوية على المبيدات الفوسفورية يجب تحليلها فوراً كلما كان ذلك ممكناً لأن المخلفات مستخفى نهائياً اذا حفظت العينات لعدة أسابيع حتى تحت ظروف التجميد أو التبريد .

* يجب جمع عينات الماء في اوانى من الصلب الذى لا يصدأ أو الزجاج لأن الاوانى البلاستيكية قد تمتص بعض المبيدات لذلك يجب عدم استخدامها لان استرجاع العينات من العبوات صعب ان لم يكن مستحيل . فى العادة لا تضاف مواد حافظة لعينات الماء ويجب تغطية اغطية الاوانى وتعليقها برفاقتى الالومنيوم .

* اذا كان الطين يتوقع احتواؤه على المبيدات الفوسفورية العضوية يمكن تجميدها وهى مثلة لتأخير الإهيار . العينات المحتوية على المركبات الكلورينية العضوية يمكن تجفيفها بالهواء فى كايئة مظلمة . لا يحدث فقد أو تغير فى المخلفات اذا خزنت بعد الجفاف فى ظروف تبريد تحت تجميد . يمكن تقسيم الطين فى عמוד ويقسم الى تحت عينات تمثل اعماق مختلفة وهى مجمدة .

* ليس عملياً تجميد أو تبريد العينات فى الحقل بل يمكن استخدام كبريتات الصوديوم اللامائية لتجفيف معظم العينات ومنع الانهيار البيولوجى أو الكيمائى . بعد تجهيز العينات جيداً وتخزينها تحت التبريد وفى ظروف الظلام يمكن خلطها مع كبريتات الصوديوم وبذلك يمكن تركها لعدة أسابيع بدون تبريد . بناء على محتوى الرطوبة فى العينات يتوقف نسبة كبريتات الصوديوم لوزن العينة من ١ - ٥ جزء كبريتات صوديوم الى واحد جزء من العينة لتجفيف العينات . العينات الدهنية يوصى باستخدام مخلوط من نسب متساوية من كبريتات الصوديوم والسيليت . يفيد استخدام خلط كهرى صغير لخلط كبريتات الصوديوم مع المادة كما يمكن الخلط بهون ومكبس . يجب الحرص فى وزن العينة وكبريتات الصوديوم حتى تكون النسب متوازنة خاصة اذا كانت العينة الاساسية متقسم بعد ذلك الى تحت عينات .

* يمكن استخدام ورق الترشيع أو شرائح زجاجية أو معدنية لجمع رواسب المبيدات خلال التطبيق ثم توضع بعد ذلك فى زجاجات تحتوى على مذيبات عضوية مناسبة . بعد وزن البلاتنكون واللاقاريات الصغيرة توضع مباشرة فى المذيبات . المذيبات يجب ان تكون من نفس النوع والقوة التى تستخدم فى استخلاص المبيدات لاجراء التحليل . لتفادى انهيار المبيدات يجب الحرص بعمل العينات فى ظروف تبريد وبعيداً عن ضوء الشمس خلال النقل والتخزين ..

هـ (العينات الحيوانية

* الطرق المتعارف عليها لجمع الفقاريات واللاقاريات تناسب جمع العينات الحيوانية لتقدير المخلفات . لا يمكن التوصية باستخدام السموم فى جمع الحيوانات لانها تحدث تعقيدات كبيرة فى

تقييم تواجد وتأثيرات المبيدات . لقد تم تقييم استعمال الروتينون لجمع الاسماك وقد اعتبر مناسباً في جمع الميناء (Tom pkins - ١٩٦٦) . ان اصطيد الحيوانات ووضعها في الاسر وتهيتها للاختبارات التوكسيكولوجية تتطلب تصريحاً خاصاً من السلطات المختصة .

* يجرى تحليل المخلفات لتحريف انواع المبيدات في الحيوانات وتحديد الكميات الموجودة في كل الحيوان او في انسجة خاصة . يجب ان يؤخذ في الاعتبار ان اهداف برنامج العينات والمبيدات يجب ان تعتبر في تحديد انواع وعدد عينات الانسجة التي تفحص . يوصى بتحليل ستة الى عشرة حيوانات فقارية كبيرة لتحديد الاختلافات في مستويات المخلفات في النوع الحيواني . في حالة مفصليات الارجل لا تناسب عينة واحدة لصغرها ولكن يجب ان تكون العينة مركبة من عدة افراد .

* من المطلوب تحليل وتقدير المبيدات في كل جسم الحيوان لتقدير الكميات الفعلية التي تتراكم في الحيوان خاصة في حالة الدراسات المختصة بتقييم انتقال المبيدات في ملونات السلاسل الغذائية . يمكن هرس الحيوان كله وتجهيز مستخلص للتحليل . يمكن تجهيز الطيور الميتة في الحال لتحليلها . يجب ازالة الجلد من الطيور والثدييات قبل تجهيز العينات ويجب الحرص بحيث يسترجع اى دهن تحت الجلد او ملتصق به خلال التحليل حيث يتوقع احتوائها على المبيدات . من الصعوبة تحليل الحيوانات الكبيرة او جميع الحيوان ويستعاض عن ذلك بتحليل عينات مركبة تحتوي ٥ جم من كل من القلب والكبد والكلية والعضلات والمخ . اذا امكن تقدير المحتوى الكلى للدهون يمكن الاستفادة من تحديد مستويات المبيدات بما يعطى فكرة عن كمية المبيد التي يحتويها الجسم . تستخدم هذه الطريقة في المبيدات الكلورينية الناتجة الذائبة في الدهون . عادة تزال القناة الهضمية من حيوانات التجارب قبل اجراء التحليل لكل الجسم لتحديد تراكم المبيد وعلاقته بمحتوى الغذاء من المبيدات . يجرى هذا التكنيك لتفادى تعريف المبيدات في القناة الهضمية على انها منتجات متراكمة في الجسم .

* التعرض للمبيدات غالباً ينعكس على شكل المخلفات الموجودة في الانسجة المختصة . مثال ذلك ان التركيز العالي من الـ د د ت في المخ يرتبط بموت او ضعف حيوانات التجارب التي تتعرض لهذا المركب (Stickel et al - ١٩٦٦) . الأنسجة الدهنية تعتبر دليلاً حساساً لتراكم المبيدات الكلورينية في الحيوانات . المخلفات في الانسجة الدهنية تعكس درجة وقت التعرض ولكنها ليست مؤشراً على التأثيرات الموهنة على الحيوانات المعرضة . تحليل العضلات والأنسجة الدهنية تفيد في الدراسات الخاصة بتأثير المبيدات على الصحة العامة . يمكن مقارنة المخلفات الموجودة في دهن الحيوانات البرية بقيم التحمل الموضوعية Tolerance في اللحوم والطيور الناجمة . مستويات المبيدات في الانسجة العضلية التي يتناولها الانسان ذات قيمة خاصة عند تحديد الضرر على الصحة العامة من تناول الأسماك والاحياء البرية الملوثة .

* دور الدهن كوسط محتوى على المبيدات المترسبة ذات اهمية كبيرة للغاية تلقى جميع

الاعتبارات فى برامج تحليل الانسجة . هذه الانسجة من احسن الدلائل على تلوث الحيوان بالمبيدات الكلوروتينية . اذا كان عدد التحليلات محدودا وهدف البرنامج تحديد وجود هذه المبيدات فى الانسجة يعتبر تحليل عينات الدهن مناسبا جدا . قد تكون هناك صعوبات فى الحصول على كميات كافية من الدهون فى بعض الحيوانات لتحليل المخلفات . مطلوب عينة لا تقل عن ٥ جم او اكثر للكشف عن مخلفات المبيدات اذا كانت منخفضة .

* مخلفات المبيدات الذائبة فى الدهون فى انسجة الحيوانات يمكن التعبير عنها باجزاء فى المليون على اساس وزن النسيج او وزن الدهن فى ذلك النسيج . قد تختلف المستويات فى علاقة طردية مباشرة مع وجود الدهن . هناك اختلافات كبيرة فى محتوى الدهن فى الانسجة بين اعضاء الجسم المختلفة تبعاً لظروف ونوع الحيوان . ان ربط المخلفات بالدهن تعطى مقارنة جيدة عن مخلفات المبيدات الموجودة فى مختلفة الانسجة او فى الحيوانات المختلفة وهذه العلاقة افضل من تلك الموجودة بين المبيدات ووزن النسيج الدهنى فى السمك . او دهن عضلات الصدر فى الطيور . هذا يرجع للاختلاف بين مقدر نوعى العينات على احتواء المبيدات . النسيج الدهنى قد يحتوى على ٥٠ - ١٠٠ ٪ دهن بالوزن بينما النسيج العضلى لا يزيد محتواه من الدهن عن ٥ ٪ . لذلك نتوقع احتواء النسيج الدهنى على اكبر كمية من المبيدات الكلوروتينية مقارنة بالعضلات لذلك يكتفى بالكشف عن المبيدات فى الدهن سواء فى النسيج الدهنى او فى النسيج المأخوذ من الحيوانات .

* قد يحوى مع البيض على المبيدات التى تلوب فى الدهون والتى كانت موجودة قبلا فى جسم الاناث . لذلك يعتبر تحليل مع البيضة ذات اهمية خاصة فى الدراسات التى تتعلق بتأثيرات المبيدات على تكاثر الطيور . قد يكون تحليل البيضة كلها ذات معنى كبير فى حالة البيض المجموع فى الاطوار المتأخرة من التحضين . يمكن فصل الملح والبياض من البيض المجمد اذا سمح للبيض بالتسييح قليلا . ان فقد الرطوبة يمكن اخذه فى الاعتبار فى حالة البيض المجمد تحت ظروف التخزين لكن يجب العناية بالوزن . يمكن حفظ البيض دون فقد يذكر فى الرطوبة عندما تحفظ فى اكيناس بلاستيك كل بيضة على حدة على ان يشطف ويغرس منها الهواء وتخزن على درجة حرارة - ١٠°م او اقل (نشرة خاصة للباحث L. A. Woods, Jr.) .

* فى برامج استكشاف مخلفات المبيدات يمكن استغلال المواد المجموعة فى دراسات اخرى ومثال ذلك يمكن تقدير المخلفات فى اليوم المائية بتحليل عضلات الاجنحة . تؤخذ الاجنحة من الطيور التى تصطاد فى موسم الصيد لتحديد اعمار مجموع الطيور . النتائج التى تسفر عنها برامج التحليل هذه تعتبر ذات قيمة فى تقدير تلوث المبيدات للحيوانات على المستوى القومى . عند تقدير التسمم بالمبيدات الفوسفورية يكون من الاهمية تقدير التعرض النسبى عن طريق الجلد او الفم . تحليل الريش والقنوات الهضمية للطيور اثبت ان تعرض الطيور للباراثيون عن طريق الجلد والفم كانا السبب وراء موت العديد منها . يتم الكشف عن وجود الباراثيون بعد اربعة ايام من التعرض

* استخدم قياس تثبيط الكولين استريز في دم ومخ الطيور والثدييات كذلك في مخ السمك بنجاح لتحديد درجة تعرض حيوانات التجارب للفسومات العضوية ومبيدات الكاربامات . من المحتمل ان يقدم تحليل انسجة المخ افضل الدلائل عن التأثير القاتل . يمكن تجميد الامخاخ وهبرة الدم دون التداخل مع اختبارات تثبيط الكولين استريز . تتخذ احتياطات خاصة ومجهودات كبيرة للحصول على عينات طازجة كذلك في الحفظ السريع للعينات .

* معظم مبيدات الحشائش معروف عنها انها لا تسبب الموت او اية تأثيرات اخرى مباشرة على الاسماك والاحياء البرية عندما تستخدم تحت الظروف المناسبة والعادية للتطبيق . اما استخدام بعض مبيدات الحشائش الاربوماتية لمكافحة النملوات المائية تحدث موتا كاملا لجميع الاسماك واللافقاريات المائية في المساحات المعاملة . لذلك يجب حفظ العينات التي يعتقد ان فيها مبيدات حشائش عطرية تحت ظروف تبريد ثم تحليل سريعا . مثال ذلك في حالة مبيدات الـ ٢, ٤ - د يجب ان تبرد في الحال وتحلل سريعا كلما امكن .

* تستخدم المخلفات الموجودة في الكلى والكبد في تقدير تعرض الحيوانات البرية للمعادن الثقيلة مثل الزئبق والرصاص والزنك والنحاس . عادة يتم تحليل خياشيم السمك اذا كان هناك شك في وجود المعادن الثقيلة . اذا كان من الضروري تعزير العينات ينصح بتجميدها .

* عند تعرض الحيوانات الغير مستهدفة لمبيدات القوارض مثل المركب ١٠٨٠ * استركتين « وفوسفيد الزنك من خلال التعرض المباشر يتناول الطعم السام او بطريقة ثانوية من خلال التغذية على حيوانات سبق ان اكلت طعم ملوث بالمركب . في معظم الاحوال تستخدم محتوى الغذاء من المعدة او الحوصلة او جزء من القناة الهضمية للتحليل للكشف عن المخلفات . يعتمد التشخيص في حالة التسمم بفوسفيد الزنك على الكشف عن غاز الفوسفين . يفضل فحص جميع اجزاء الحيوانات الميتة وكذلك الجثث كاملة نمنا لفقد الغاز . اذا كان ذلك غير عمليا يفضل وضع الحوصلة الغير مفتوحة والقونصة او المعدة في اناء محكم القفل حتى الفحص والتحليل .

* تحدث ازالة للاستركتين من جسم الحيوان بسرعة بواسطة الكبد . يمكن الكشف عن المخلفات في عينات الكبد ولكن تحليل محتويات المعدة او الاحشاء تفيد في تشخيص مسبب التسمم اذا كان وجود الاستركتين مشكوك او متوقع فيه . استخدمت عينات العضلات والقلب والكلى وانسجة الكبد للكشف عن التسمم بمركب ١٠٨٠ . يجب تجميد العينات المحتوية على مبيدات الفئران خلال التخزين .

(و) عينات الماء

* يلعب الماء دورا هاما في التلوث العرضي للبيئات الغير معاملة ، حيث يعتبر وسيلة فعالة لنقل المبيدات من الاماكن المعاملة (١٩٦٤) . معظم الانهار والجاري المائية وقنوات الري تحتوي على المبيدات والملوثات في الماء تعطى صورة واضحة عن مصادر تعرض النباتات المائية وللحيوان

التي تعتمد على البيئات المائية . ثم الكشف عن مخلفات واطية جدا فى معظم العينات التى اخذت من اكبر الأنهار . فى بعض الاحيان سواء كان ذلك عرضيا او بشكل مقصود تدخل المبيدات الى مصادر المياه بكميات كبيرة مما يؤدى الى موت معظم ومختلف انواع الحياة المائية .

* لا يمكن اعتبار المياه فى البيئات الطبيعية ذات صفات مطلقة لانه يتغير فى المواصفات والنوعية تتميز المياه بانها الوسط الذى يحتوى ويرتبط مع كم هائل من المواد العضوية وغير العضوية . تم الكشف عن انواع متعددة من العناصر الكيميائية فى محلول المياه العادية أو فى المعلقات خلال النقل بواسطة المياه المتحركة . ذوبان المبيدات فى الماء العادى يتأثر لحد ما بوجود بعض المواد الموجودة فيها . كما ان انهيار او ثبات المبيدات يتأثر لحد كبير بمواصفات المياه . المبيدات ذات قابلية كبيرة لبعض المواد الموجودة فى الماء لذلك تختلف مستويات المخلفات فى مختلف المكونات المائية .

* تتحكم العلاقات الطبيعية والحيوية فى انتقال مخلفات المبيدات بين مكونات البيئة بينما العوامل الفسيولوجية والتوكسيكولوجية تؤثر على تراكم وتأثير المبيدات على النباتات والحيوانات . حتى لو كانت مستويات هذه المبيدات عالية الثبات من عائلة ال د د ت تتعاطم كمياتها بشكل كبير فى البيئات والمأهولات المائية فانها قد تحدث تأثيرات ملحوظة فى موت الاسماك والحيوانات البرية الغير مستهدفة (Huntland Bischoff ١٩٦٠) .

* ان الهدف من معظم التحاليل المائية تقدير مستويات التلوث فى النظام المائى . بينما يعطى تحليل عينات المياه العادية (الخام) دليلا فقيرا عن مستويات المخلفات التى تحدث فى مختلف مكونات هذا الماء . معظم المبيدات الثابتة ذات ذوبان بسيط فى الماء ولكن الماء قد يحتوى على مواد عالقة ناقله تحتوى على تركيزات عالية من هذه المبيدات . تحليل عينات مياه الانهار قد تدعو للقول والاقتراح بوجود تركيزات قليلة من المبيدات بسبب مسك الجسيمات العالقة فى الماء للمبيدات وتزداد كميات المبيدات اذا كان حجم الماء فى الانهار والبحيرات والجارى المائية كبيرا . ان مستويات المبيدات فى العوالق الخاصة مثل البلاكتون والمواد العضوية الصلبة تكون اكثر اهمية فى اعطاء دليل عن اخطار هذه المركبات على الاسماك والطيور عما هو حادث مع مستويات المبيدات فى الماء نفسه .

طرق التحليل

* المبيدات تشتمل على العديد من المركبات ذات تركيبات كيميائية ومواصفات شديدة الاختلاف لذلك لا بد من توافر طرق متعددة لتحليل هذه المركبات . العديد من المبيدات قد تعرف او يكشف عنها بطرق كثيرة ولكن بعضها يحتاج لطرق متخصصة . لقد وضعت وطورت طرق تحليل المبيدات لتصلح فى الكشف عنها فى بيئات مختلفة بينما هناك طرق تصلح لأوساط معينة دون غيرها . ان كفاءة الطريقة للكشف عن مبيدات متخصصة فى انواع مختلفة من العينات

تختلف تبعاً لخبرة القائم بالتحليل والامكانيات المتوفرة في المعمل . لا بد من توفر بعض الاجهزة التقليدية واخرى متقدمة ومكلفة لتحليل مدى واسع من المبيدات . القليل من المشتغلون بالتحليل يعملون في الكشف عن جميع انواع المبيدات والبعض الآخر على دراية وخبرة لتحليل عدد لا بأس به من المركبات وهناك فئة ثالثة تستطيع تحليل عدد قليل من المبيدات .

* لاجراء تحليل جيد للمبيدات يجب توفر الموهبة والمهارة الفنية والمعرفة لدى القائم بهذه المهمة هذا يتضح اكثر في حالة استعمال الاجهزة المتقدمة والطرق الحديثة مثل الكروماتوجرافى الغازى . بالرغم من استخدام هذه الامكانيات العظيمة فى العديد من المعامل بالدقة والمهارة المطلوبة لأن النتائج تتأثر كثيراً بمهارة المشتغل بالتحليل ليس فى التشغيل فقط ولكن فى اختيار وتنفيذ الطرق المناسبة لتجهيز العينات وبالحس التخمينى لديه عن مقدرة الأجهزة والامكانيات التى يعتمد عليها حيث يستطيع ان يتنبأ بموقف المخلفات ببراعة فائقة تتوقف على خبرته وتجاربه ودوام العمل بنفسه .

* قد تلوث الاسماك والاحياء المائية الاخرى بمدى واسع من المبيدات بينما الامكانيات المتاحة فى العديد من المعامل لا تسمح بالكشف عن هذه المركبات فى الانسجة الحيوانية . يمكن اجراء التحليل على المركبات التى معروف عنها انها تحدث اضرارا كبيرة على الحيوانات البرية . هذه الدراسات تعكس لحد كبير التطور فى مجال تحليل مخلفات المبيدات خاصة عند ظهور مشاكل . ان نقص توفر الطرق المناسبة لتحليل انواع معينة من المبيدات بعد التطبيق يحدد بشكل كبير نوعية الدراسات الخاصة بتلوث الاحياء البرية بالمبيدات . والآن حدث تطور كبير فى هذا الاتجاه .

* معظم برامج تحليل المبيدات تضمن عزل وتعريف وقياس المخلفات فى عينات الوسط الموجودة فيه . لقد تم إنجاز هذا العمل من خلال ازالة المبيدات وغيرها من المواد المستخلصة من العينات وذلك عن طريق تعرض المستخلصات لطرق تمكن من عزل اكثر للمبيدات ومن ثم تعرف وتحديد كمية المخلفات . بعض طرق التحليل الاخرى تستخدم وسائل غير مباشرة لكشف وجود المبيدات وهذه تشمل قياس التفاعلات البيولوجية والفسولوجية او الكيميائية التى تنتج من وجود انواع معينة من المبيدات فى العينات .

* الطرق المستخدمة فى تحليل العينات للكشف عن الحيوانات البرية والبيئات الموجودة فيها وتلوثها بالمبيدات هى نفس الطرق المستخدمة مع عينات الغذاء والالاف . هناك بعض الاعتبارات الخاصة مطلوبة لتحليل بعض المبيدات فى بعض الاوساط . ونشير الى اهم هذه الطرق باختصار فيما يلى :

١) قياس النشاط البيولوجى

تستخدم النباتات والحيوانات بشكل واسع ككائنات اختبار فى قياس سمية وفاعلية المبيدات

وفى تحليل العينات للكشف عن وجود الملوثات الغير معروفة . سنتناول فى هذا المقام مناقشة استخدام التقييم الحيوى وقياس تثبيط النشاط الانزيمى فى الكشف عن مخلفات المبيدات . تستخدم اختبارات تثبيط نشاط انزيم الكولين استريز على نطاق واسع فى الكشف عن مخلفات المبيدات الفوسفورية والكاربامات فى النظم الحيوية . كذلك يمكن استخدام هذه الطرق للكشف عن المبيدات الاخرى التى تثبط الانزيمات فى اوساط بيئية اخرى . يمكن تقدير المخلفات باستخدام الانسجة الحيوانية كالمخ أو الدم بشكل مباشر فى التقديرات . يجب ان يحدث استخلاص جيد للعينات يليها التنظيف كما هو مطلوب ومتبع فى الطرق الاخرى للتقدير .

* هناك حالات كثيرة اعطت فيها الاختبارات الحيوية المبينة على قياس تثبيط النشاط الانزيمى افضل النتائج التى تفوقت على الطرق الاخرى بما فيها الطرق الكيمائية التقليدية فى الكشف عن التعرض لجرعات غير قاتلة من المبيدات فى هذه الاختبارات يستخدم الدم كوسط طبيعى يقاس فيه درجة التثبيط . احيانا يقاس تثبيط الانزيم فى المسخ للكشف عن دور المركبات الفسفورية كمسببات لموت الطيور كما حدث مع مبيد الـ ثيمت (Bunyan and Taylor - 1966).

* اختبارات تقدير مخلفات المبيدات فى مستخلصات العينات يتضمن تجهيز العينة وتقدير درجة وسرعة تثبيط الكولين استريز فى المستخلص فى مقابل الانزيم القياسى . يمكن استخدام الدم والمخ فى انواع عديدة من الحيوانات كمصدر للانزيم . تخلط العينة مع الأستونتريل فى خلاط خاص او تلعن العينة وتحفظ فى اناء مع مذيب الاستخلاص . بعد الترشيع يجفف المستخلص تحت التفريغ ثم يذاب الراسب المتبقى فى الكلوروفورم . يتم تنظيف مركز الكلوروفورم من المواد المتداخلة بتمريره خلال عمود مملوء بكاربامات الصوديوم - كربون - سيليت . يؤخذ الراشح للتجفيف ثم يعاد اذابته فى البنزين وينشط بحمض فوق الخليك . ويتم التقدير بالمعايرة القياسية للكشف عن النشاط المضاد للكولين استريز .

* تحليل مستخلصات العينات تمكن من قياس نواتج تمثيل المبيدات الفوسفورية التى يكون لها نشاط بيولوجى اكبر من المركبات الصلبة . تفيد هذه الطرق فى الحالات التى لا تستطيع طرق التحليل الكيمائية تعريض نواتج الانهيار للمبيدات . من اكبر عيوب هذه الطرق عدم التخصص بما لا يمكن من التمييز بين الانواع المختلفة من المبيدات التى تثبط نشاط انزيم الكولين استريز . كذلك لا يمكن بالطرق الانزيمية التقدير الدقيق لكمية المبيد فى العينة الا اذا كان نوع المبيد معروف مسبقا .

* تستخدم ثلاثة طرق فى تقديرات الكولين استريز وهى : الطريقة اللونية حيث يقاس الاستيتال كولين الغير متفاعل (Hestrin , 1949) والطريقة الكهرومترية electrometric وفيها يسمح بفصل الكولين استريز على الاستيتال كولين فى محلول منظم قياسي (Michel , 1949) والطريقة الكهربية اللونية electrophoretic حيث توضع

العينة فى جيل نشوى وتقطع فى شرائح وقطاعات وتصبغ قبل التحضير وتقام (Bunyan and Taylor , 1966) .

* لقد اجريت دراسات عن القيم النسبية للاختبارات اللونية الكهرومترية للكشف عن المبيدات فى الاسماك وغيرها من الاحياء البرية . أما الطرق الكهرومترية ذات مجال mhsu وقد اتضح منها عدم حدوث تأثيرات قاتلة على الاسماك من جراء التعرض لجرعات تحت ممتة من المبيدات .

* التقييم الحيوى باستخدام النباتات والحيوانات ذات قيمة فى تحليل التأثيرات السامة للكيميائيات . عند تعريض الكائنات الحية لمستخلص العينة يمكن قياس التأثيرات السامة الكلية . تفيد هذه الطريقة فى تحليل الغذاء الحيوانى حيث ان الطرق الاخرى غير قادرة على تعريف نواتج الانهيار . كل مبيد او ناتج تمثله له نشاطه الحيوى الخاص والمعين . لذلك لا يمكن التعبير عن نتائج اختبارات التقييم الحيوى باستخدام حيوانات التجارب بوحدات أجزاء فى المليون الا اذا كان نوع السم فى العينة معروف جيداً . تستخدم العديد من الحيوانات فى التقييم الحيوى لمخلفات المبيدات مثل الفئران البيضاء مع مركب ١٠٨٠ فى العينات النباتية . يستخدم الذباب المنزلى للتقدير الكمي ونصف الكمي للسموم . تستخدم يرقات البعوض وغيرها من الحشرات لقياس السموم فى العينات المائية . قدمت الدافنيا طريقة شديدة الحساسية للكشف عن مخلفات المبيدات فى الماء . لم تستخدم النباتات على نطاق واسع فى دراسات تلوث الاسماك والاحياء البرية .

* ليكن معلوما ان طرق التقييم الحيوى لتقدير مخلفات المبيدات قياسية حيث يتم تعريض الحيوانات لمستخلص العينة او العينة نفسها فى بعض الحالات . بعد فترة معلومة من التعرض يتم حصر الحيوانات الميتة ويتم تسجيل نسبة الموت . يمكن التعبير عن نتائج الاختبار باجزاء فى المليون للسم المكافئة لوحدة المبيد القياسى او يعبر عنها بجزء فى المليون مباشرة فى حالة اذا كان نوع السم معروف ومؤكد .

* لقد تم الاستعاضة عن طريقة التقييم الحيوى بالطرق الكيميائية فى تحليل المخلفات فى الاسماك والحياء البرية الاخرى بسبب نقص التخصص وطول الفترة اللازمة للحصول على النتائج والتكلفة العالية وصعوبة تربية مستعمرات حيوانات الاختبار . ان مستقبل التقييم الحيوى يكمن فى قياس السمية وليس الكشف عن مخلفات المبيدات .

ب) طرق التحليل الكيميائية للمخلفات

تعتبر طرق التحليل الكيميائى للكشف وتقدير مخلفات المبيدات فى الاسماك وغيرها من الاحياء البرية عصب الدراسات البيئية لتحديد العلاقات بين الحيوانات والمبيدات بالتفصيل المطلوب :

١ - اختيار طرق التحليل

يجب تحديد والاتفاق على طريقة وخطوات التحليل قبل البدء في جمع العينات . اللقاءات بين الكيميائيين والبيولوجيين تؤدي الى تحديد وتوصيف وتعريف الصعوبات التي قد تحدث خلال تحليل العينات . يجب تصميم وضبط أهداف التجربة الحقلية بما يحقق خطة ومتطلبات القائم بالتحليل لتداول العينات واعطاء نتائج ذات معنى . يحتمل وجود انواع مختلفة من المبيدات في العينات الحقلية مما يتطلب طرق وخطوات خاصة لتحليل والكشف عن كل الكيماويات المطلوبة . يجب جمع العينات الملائمة والكافية لاجراء التحليل مرتان على الاقل بشكل كامل . على البيولوجيون تحديد وتوصيف المبيدات المحتملة وجوده في العينات او على الاقل تحديد الانواع التي يردون التأكد من وجودها في العينات .

* بنى اختيار طرق التحليل للكشف عن مبيد او مبيدات معينة على اساس الاعتبارات التالية : أ) نوع العينة محل التحليل ، ب) درجة الدقة المطلوبة في النتائج الخاصة بالتقدير النوعي او الكمي ، ج) الامكانيات بما فيها الاجهزة المتاحة للتحليل ، د) الوقت المطلوب لاستكمال وإنهاء التحليل . هناك عوامل اخرى تؤخذ في الاعتبار مثل ميل الكيماوي وقناعته في استخدام طرق معينة للتحليل . في الحالات التي يكون فيها شك من حدوث الوفيات بسبب المبيدات يجب ان تحقق نتائج الطريقة المختارة دليل او وثيقة مؤكدة يعتد فيها عند اللجوء للمحاكم والجراءات القانونية الرسمية .

* يمكن اللجوء لاستخدام طرق تقليدية تكشف عن المبيدات بسرعة وبأقل عدد من الخطوات اذا كان مطلوب تحليل عدد كبير من مكررات العينة الواحدة . هذا يحدث في تحليل مبيد واحد او مجموعة من المبيدات من نوعية واحدة . مثال ذلك ما يحدث من هضم عينات انسجة الطيور باستخدام حامض البيركلوريك للكشف عن المبيدات الكلورينية فيما عدا الأندرين والالدرين والديلدرين .

٢ - تجهيز العينة

من الخطوات الهامة والمحددة لصلاحية طرق الاستخلاص والتنظيف بل انها تمثل الخطوة الحرجة في تحليل المخلفات . تتحدد درجة النجاح في فصل المبيدات من العينات المحتوية عليها القيمة الحقيقية للتحليل الكيماوي . المشكلة الكبيرة في هذه المجال تتضمن الاستخلاص وجمع كمية صغيرة جدا من المبيد من كمية كبيرة جدا من العينة . من الاهمية بمكان ازالة مخلفات المبيد من العينة بطريقة لا تغير من التقدير الدقيق لكمية المخلفات . يجب فصل المخلفات من المواد التي قد تتداخل أو تخجب تعريفها وتقديرها .

* تستخدم عدة طرق بما فيها الوسائل الميكانيكية او الكيماوية لجعل العينات حساسة للاستخلاص الكيماوي . من الطرق الشائعة طحن العينة مع كبريتات الصوديوم عند تجهيز العينات

النباتية والحيوانية . عندما تكون العينات خشنة يضاف الرمل لتسهيل الطحن والمهرس . العينات التي يضاف إليها كبريتات الصوديوم فى الحقل لا تحتاج لتجهيز سابق قبل الاستخلاص حيث لا يحدث تراكم للرطوبة أثناء التخزين . قد تخلط العينات النباتية والحيوانية مع الثلج الجاف فى خلط مناسب لتكوين مسحوق . العينات التى تجهز بهذه الطريقة تستخلص عادة مثل السيجان أو تخلط مع كبريتات الصوديوم . ان استخدام خلط الموجات فوق الصوتية يفيد كثيرا مع الأنسجة الطرية لانه يشتت ويفتت الخلايا والأنسجة بما يحقق الاستخلاص الفعال . الطرق تتضمن هضم النسيج باستخدام الاحماض او القواعد القوية كما يستخدم تفتيت النسيج تحت ظروف التكليف العاكس .

* يمكن انجاز استخلاص العينة باستخدام مذيب او مخلوط من أنظمة المذيبات . يمكن استخدام الخلط الميكانيكى او الخط الآلى للاستخلاص مثل جهاز سوكسلت . من امثلة المذيبات المستخدمة فى الاستخلاص البنزين لاستخلاص المبيدات من الرواسب والطين ومخلوط الاثير والهكسان لاستخلاص العينات المائية والهكسان او الاسيتونتريل لاستخلاص الانسجة النباتية والحيوانية .

* تتضمن طرق التنظيف الشاملة Clean - up الفصل الجزئى لمستخلص العينة من مذيبين غير قابلين للامتزاج . هذه الخطوة هامة فى ازالة الصبغات والشموع والدهون . الفصل الجزئى ضرورى اذا كان محتوى الدهن فى العينة عالى . من امثلة نظم المذيبات الفعالة نظام الهكسان والداى ميشيل فورماميد واثير البترول مع الاسيتونتريل (Faubert Maunder) واخرون (١٩٦٠ ، Storrer and Mills - ١٩٦٧) . يمكن انجاز الخطوة الاخيرة من التنظيف بترشيح المستخلص الناتج من الفصل الجزئى باستخدام عمود كروماتوجرافى مملوء بمادة ادمصاص مناسبة مثل الفلوروسيل او الأتكلای او الفلوروسيل - سيليت او اكسيد الماغنسيوم او مخلوط اكسيد الماغنسيوم - سيليت او اكسيد الالومنيوم .

* بعد ادمصاص العينة على العمود تزاح مخلفات المبيد باستخدام مذيبات غير مناسبة مثل الايثيل اثير فى اثير البترول او الايثيل اثير فى الهكسان . فى بعض الحالات يمكن ازالة المبيد باستخدام مذيب واحد . بعد ذلك يتم تركيز المزاج حتى حجم معين ثم يحقن مباشرة فى جهاز الكروماتوجرافى الغازى او يمكن تجفيفها تماما ثم يعاد اذابة المخلفات فى مذيب اخر للحقن فى الكروماتوجرافى الغازى او التحليل باستخدام الكروماتوجرافى الورقى او ذو الالواح الزجاجية ذات الطبقة الرقيقة TLC . يمكن استخدام الطرق اللونية بعد هذه الخطوة . يمكن استخدام كروماتوجرافى الالواح فى تنظيف العينات من المواد المتداخلة .

* ثم تطوير الطرق بما يختصر ويقلل من الوقت اللازم لتجهيز العينة مثال ذلك طريقة هضم وتنظيف عينات الانسجة الحيوانية باستخدام حامض البيركلوريك والهكسان مع عينات المبيدات الكلورينية العضوية . فى هذه الطريقة يتم تحطيم الانسجة الحيوانية بالحامض ثم يتحرر الدهن

المحتوى على المبيدات (Stanley and Le Favoure , 1965) . يتم استخلاص الدهون بالسيكلوهكسان ثم يكسر باستخدام مخلوط مكون من حامض الكبريتيك - حامض الكبريتيك المدخن - السيليت . بعد ذلك يمرر المستخلص خلال عمود Davidow وبمدها تكون العينة صالحة للتحليل النهائي . يمكن تجهيز عينات الطيور الكاملة بهذه الطريقة بعد تقطيعها . من أهم محددات صلاحية هذه الطريقة هو تكسير المبيدات بالأحماض المستخدمة كما في حالة الديلدرين والالدرين. والاندرين كما ان الطريقة غير عملية مع المواد الغير دهنية مثل النباتات والماء والترية . هناك طريقة سريعة للمبيدات الكلورينية ، تتمثل في احدثات عملية اخراج الكلور باستخدام قلو في مكثف عاكس .

٣ - تحليل العينة

* معظم تحليل مخلفات المبيدات في الاحياء المائية تجري باستخدام الكروماتوجرافى الغازى . يستخدم الكاشفات الصائدة للالكترونات ECD او القياس الكهربى الدقيق لتحريف المبيدات الكلورينية والثيوفوسفات . تستخدم الكروماتوجرافى الورقى او ذى الألواح المنفطة كطرق مساعدة ومعبدة للكروماتوجرافى الغازى كذلك في تجارب الغرلة وهى تفيد كذلك في تعريف المبيدات المعروفة والمؤكد وجودها فى الوسط . سوف يزيد استخدام الكروماتوجرافى ذى الألواح اما للكشف عن المبيدات فى العمل الروتينى السريع او فى تنظيف العينات قبل الكروماتوجرافى الغازى .

* استخدام القياس الطيفى بالأشعة تحت الحمراء IR لتحريف وتحليل مخلفات المبيدات فى المستحضرات المستخدمة فى التجارب الحيوية . حقيقة الامر ان المخلفات فى النباتات والحيوانات تكون صغيرة جدا بما لا يسمح بهذه الطريقة . ان تطور طرق جمع وتركيز المخلفات خلال الكروماتوجرافى الغازى قد يعمل على زيادة الاعتماد على هذه الطريقة فى المستقبل .

* لقد اصبحت طريقة الاعتماد على طيف الامتصاص الغازى ذات اهمية كبيرة فى تقدير العناصر المعدنية وشبه المعدنية فى حدود اقل من واحد جزء فى المليون . هذه الطريقة تفيد فى الكشف عن العناصر والمعادن مثل الزئبق والنحاس كملوثات يبيعية او كمسببات مباشرة لموت الاسماك وغيرها من الاحياء البرية .

* هناك اهتمام كبير وادلة مؤكدة على تكسير ال د د ت خلال التخزين والتحليل (Spencer ١٩٦٧) . قد يتحول ال د د ت الى DDE فى الأنسجة تحت ظروف معينة من التخزين كما قد يحدث هذا التحول خلال عمليات تنظيف العينات فى الاعمدة المملوءة باكسيد المغنسيوم - السيليت . كما ان ال د د ت قد يتحول الى DDD و DDE فى الكروماتوجرافى الغازى (Ott & Gunther ١٩٦٥) . هذا مهم جدا للدارسين فى مجال تسمم الاسماك والاحياء البرية فى البيئة بسبب انتشار التلوث البيئى بال د د ت . هذه الحقائق ذات اهمية كبيرة فى دراسة العلاقة بين ال د د ت الموجودة فى الأنسجة وتأثيراته على وظائف الجسم الحيوية فى

الكائنات المحتوية عليه . الحقيقة أننا لا نعرف ما أحدثه تكسير الـ د د ت في الجسم في الدراسات السابقة .

٤ - تحليل النسيج

* هناك طرق عديدة ومختلفة تستخدم في تجهيز وتحليل الأنسجة المأخوذة من الحيوانات البرية للكشف عن المبيدات الكلورينية . في الغالب تستخدم طرق التجهيز والاستخلاص والتنظيف القياسية والمتعارف عليها .. كما سبق القول تستخدم طريقة الهضم والتقدير السريع بحامض البيركلوريك خاصة إذا كان هدف التحليل الكشف عن الـ د د ت ومثابهاته ومشتقاته . وجميع التقديرات تجري بالكروماتوجرافى الغازى .

* هناك طرق تحليل قليلة نسبيا تستخدم فى الكشف والتقدير الروتيني للمبيدات الحشرية الفوسفورية والكاربامات وغالبا يستخدم الكروماتوجرافى الغازى المزود بالكاشف ECD فيما عدا الكاربامات التى تقدر بالطرق اللونية . مجموعة الثيوفوسفات من بين المبيدات الفسفورية العضوية تمثل مصدر الخطر على الأسماك والأحياء البرية . لقد وجدت مخلفات الباراثيون فى القناة الهضمية والريش فى الطيور . يتم خطط النسيج الحيوانى فى خلط مع الاسيتونتريل ثم يجرى فصل جزئى بالمذيبات عدة مرات بواسطة البتروليم إيثر المشع بالاسيتونتريل . يجرى التنظيف النهائى للعينة فى عمود من الفلوروسيل . يتم التقدير فى الكروماتوجرافى الغازى المزود بخليطة الكبريت للكشف عن المركبات . فى حالة الريش تغمر العينة المقطعة فى الاسيتونتريل ويحقن المستخلص فى الـ GC بدون تنظيف . لم تحظى مركبات بنصب بنصب كبير فى دراسة تلوث الأسماك والأحياء المائية بالمبيدات .

* تحليل أنسجة الحيوانات البرية للكشف عن وجود مبيدات القوارض تتضمن تحليل مخلفات الصوديوم فلوروأستات ، الاستركتين او فوسفيد الزنك . تجرى الاختبارات عادة على محتويات الأنسجة والأمعاء فى الحيوانات الغير مستهدفة للمأخوذة من الأماكن التى تطبق فيها مكافحة القوارض . ثم الكشف عن الاستركتين فى عينات المعدة والقناة الهضمية بما فيها الأمعاء والحوصلة والقناصة ولحوم الحيوانات التى تستخدم جشعها كطعم للثدييات المفترسة . بعد الاستخلاص قد تستخدم الطرق اللونية للكشف عن الاستركتين (Lilliman and Trezise - 1964) .

* تتعرض الحيوانات الغير مستهدفة لفوسفيد الزنك الناتج من استهلاك الطعوم السامة ، قد سجلت حالات وفاة كثيرة من الطيور المائية بسبب هذا التلوث . تتضمن طريقة الكشف عن المركب تقدير غاز الفوسفين . يجب أخذ الحيلة عند تناول العينات المحتوية على هذه المادة حتى لا يهرب الغاز قبل تحليل العينات .

* هناك طرق معروفة واسعة الانتشار للكشف عن المعادن الثقيلة خاصة الزئبق والرصاص

والزنك والنحاس وهي من أكثر المعادن التي توجد وتتراكم وتؤثر على الأسماك والاحياء المائية .
الزئبق والنحاس تتأتى من استخدام المبيدات الفطرية المحتوية عليها . لقد تم الكشف عن الزئبق فى
كبد وكلى الطيور الميتة فى كثير من بلدان العالم خاصة كاليفورنيا بالولايات المتحدة الامريكية .
حدث الموت بسبب تناول الطيور لمجرب معاملة بالمبيدات الفطرية الزئبقية .

* معظم مستحضرات مبيدات الحشائش التي تستخدم فى مكافحة النباتات الارضية لا تعتبر
من المواد التي تحدث ضرر مباشر على الاسماك والاحياء البرية الاخرى . لذلك لا تتضمن برامج
الكشف عن المبيدات فى البيعة فى اغلب الاحوال المبيدات الحشائشية . لقد تم الكشف عن مبيد
٢,٤- د فى الانسجة الحيوانية فى احدى الدراسات . طريقة التحليل ببساطة تتضمن تخميض
العينة وتحليلها مائيا فى الملح ثم اعادة التخميض ثم الاسترة مع الداي ازو ميثان ثم التنظيف فى
عمود الفلوروسيل ثم تقدير المستخلصات وتعريفها بالكروماتوجرافى الغازى .

٥ - تحليل العينات النباتية المخضرة :

* من الشائع تحليل المواد النباتية للكشف عن مخلفات المبيدات الحشرية والحشائشية وتبع
نفس الطرق الخاصة بالعينات الحيوانية والاختلاف الوحيد يتمثل فى تجهيز العينات . تفيد طريقة
البنزين الممتلئة فى ازالة مخلفات المبيدات الكلورينية من النباتات الجافة . يتم نقع المادة النباتية
المطحونة فى البنزين طوال الليل وهي افضل فى الاستخلاص من الفسيل المتكرر بالبنزين . يمكن
حقن المستخلص مباشرة بدون تنظيف فى جهاز الكروماتوجرافى الغازى . يمكن فصل المخلفات من
العينات النباتية الطازجة او الجافة جزئيا باستخدام مخلوط محلول الايزوبريل والبنزين ثم يعاد
استخلاص المخلوط بواسطة الكحول والماء (Thornburg - ١٩٦٣) .

* هناك العديد من المواد الشمعية الموجودة فى النباتات خاصة المائية التى قد تتداخل مع
طرق التحليل . يمكن استخلاص المبيدات الكلورينية بالنقع فى مذيب مناسب مثل الهكسان ثم
يجرى فصل جزئى بواسطة الداي ميثيل فوراميد ثم يستخدم محلول المبيد فى الهكسان مباشرة
دون اى تنظيف . استخدمت الطرق اللونية لتعريف مبيد الكبراريل فى النباتات . ليست هناك
بيانات تؤكد حدوث اضرار على الحيوانات التي اكلت اعشاب عوملت بمبيدات الحشائش من
مجموعة حامض الفينوكسى الكانويك مثل ٢,٤- د يتم الكشف عن هذه المركبات بنفس
الطرق المتبعة فى تقدير المخلفات الخاصة بهذه المبيدات فى النباتات .

٦ - تحليل عينات التربة

هناك العديد من العوامل التي تؤثر فى ازالة المبيدات من التربة بما فيها التفاعلات الكيميائية
لبعض انواع المبيدات مع مخلفات عمليات التمثيل او ارتباط المبيدات مع مكونات التربة او
ادمصاص المبيدات بواسطة الميكروبات والكائنات الحية الاخرى فى التربة . استخدمت طريقة سهلة
ومبسطة لتحليل عينات التربة فى قسم المصادر المائية بجامعة كاليفورنيا ، فى هذه الطريقة تجفف

العينة في الهواء ثم تستخلص بالاستوتريزل وترج مع ٢ ز كبريتات صوديوم وأخيرا تستخلص بالهكسان ، ويتم حقن مستخلص الهكسان في الكروماتوجرافى الغازى . يفيد هذا الأسلوب في الكشف عن المبيدات الكلورونية العضوية . هناك طريقة أخرى مماثلة تتمثل في استخلاص عينات التربة بالبنزين والرج مع كبريتات الصوديوم اللامائية ثم تؤخذ طبقة البنزين للتجليل . تختلف طرق الكشف عن مبيدات الحشائش في التربة باختلاف نوع التربة . مستخلصات التربة الخفيفة يمكن تحليلها مباشرة بدون عمليات تنظيف اما الاراضى الغنية بالمسود العضوية تتطلب تنظيف .

٧ - تحليل عينات الماء

* عادة تكون مستويات المبيدات في الماء منخفضة جدا وهناك طرق كثيرة بسيطة وسهلة للكشف عن هذه المخلفات . هناك طريقة بسيطة لا تتطلب الفصل الجزيئى او التنظيف باعمدة الكروماتوجرافى حيث يخلط ٢ جالون من عينة الماء بمحلول ١٥ ز ايثر في الهكسان ثم يسحب المستخلص ويركز لحوالى ٠,٥ مليلتر بعد ذلك يحقن ١٠٠ ميكروليتر في الكروماتوجرافى الغازى وهي تعطي نتائج قريبة جدا للطرق الاخرى . في بعض الحالات تجرى الكشف عن مخلفات المبيدات في الماء بالطريقتين الكيميائية والحيوية معا وقد تستخدم نفس طرق تقدير المخلفات في الخضر والنباتات الأخرى .

** تمثيل بيانات المخلفات

بيانات المخلفات في غاية الاهمية لتقرير حقيقة تواجد المبيدات في المكونات البيئية المختلفة . ان تطوير واستخدام ووضع القوانين المنظمة لتداول المبيدات وتحديد تأثيراتها يتوقف على التقييم الخاص والمبنى على اساس المعلومات الخاص بالمخلفات . يستفاد من بيانات المخلفات في جميع النواحي والعلاقات الخاصة بالمبيدات ويستفيد منها الباحث والتطبيقات سواء بسواء . هذه البيانات تتأني من مختلف الدراسات والتحليلات على العديد من انواع العينات . حيث ان الدراسات على المخلفات في الاسماك والاحياء المائية قليلة ، ثم وضع قياسية لمرض هذه النتائج وكتابة التقارير تسهلا لوحدة العمل واستقراء النتائج ووضع الاستنتاجات المناسبة والسليمة . يجب ان تتضمن البيانات جميع الظروف المحيطة من ماء وتربة ونباتات وحيوانات ومواد كيميائية في الماء وكذلك انواع الاراضى .

REFERENCES

- Archer, T. E., Winterlin, W. L., Zweig, G. and Beckman, H. F. (1963). Arg. Food Chem. 11, 471. .
Azevedo, J. A., Jr., E. G., and Woods. L. A., Jr. (1965). Colifd. Fish Game 51, 276.
Bamford, F. (1951). In "Poisons : Their Isolation and identification." 3 rd

- ed., pp. 68-74. Blakiston, Philadelphia, Pennsylvania.
- Benedict, W. V., and Baker, W. L. (1963). *J. Forestry* 61, 340.
- Berg, W., Johnels, A., Sjöstrand, B., and Westermark, T., (1966). *Oikoc*, 17, 71.
- Bevenue, A., Zweig, G., and Nash, N. L. (1962). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 45, 990.
- Burchfield, H. P., and Johnson, D. E. (1965). In "Guide to The Analysis of Pesticide Residues." Vols. I and II. U.S. Dept, Health Educ., and Welfare, Publ. Health Serv., Office of Pesticides, Washington, D. C.
- Bunyan, P. J., and Taylor, A. (1966). *J. Agr. Food Chem.* 14, 132.
 "Determination of 2, 4-dichlorophenoxy acetic acid and amine salts in water."
- California Department of Agriculture, Sacto., Calif. (May 4, 1966). 1 p.
 dUnpublished work.
- Collins, B. D., and Bischoff, A. I. (1965). *Outdoor Calif.* 26, 12.
- Crosby, D. G., and Archer, T. E. (1966). *Bulletin Envir. Con. Tox.* 1, 16.
- deFaubert, I. M., Egan, H., Godley, E. W., Hammond, E. W., Roburn, J. and Thomson, J. (1964). *Analyst* 89, 168.
- Elmore, J. W., and Roth, F. J. (1943). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 26, 559.
- Erickson, L. C., and Hield, H. Z. (1962). *J. Agr. Food Chem.* 10, 204.
- Frey, P. J. (1963). *Progressive Fish Culturist* 25, 46.
- Gutenmann, W. H., and Lisk, D. J. (1964a). *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 47, 353.
- Gutenmann, W. H., and Lisk, D. J. (1964b). *J. Am. Water Works Assoc.* 56, 189.
- Hall, C. W. (1965). *U. S. Fish Wildlife Serv. Circ.* 226, 32.
- Hazeltine, W. E. (1963). *J. Econ. Entomol.* 56, 624.
- Hestrin, S. (1949). *J. Biol. Chem.* 180, 249.
- Hickney, J. J., and Keith, J. A. (1965). *U. S. Fish Wildlife Serv. Circ.* 226, 11.

- Hunt, E. G., and Bischoff, A. I. (1960). Calif. Fish Game 46, 91.
- Keith, J. O. (1963). U. S. Fish Wildlife Serv. Circ. 167, 55.
- Keith, J. O. (1966). J. Appl. Ecol. 3 (Suppl.), 71.
- Keith, J. O., and Mulla, M. S. (1966). J. Wildlife management 30, 553.
- Keith, J. O., and Perry, V. A. (1964). U. S. Fish Wildlife Serv. Circ. 199, 59.
- Keith, J. O., Hansen, R. M., and Ward, A. L. (1959). J. Wildlife Management 24, 137.
- Lilliman, B., and Trezise, W. H. (1964). Med. Sci. Law 4, kkkk199.
- Matalon, J., and Robison, W. H. (1956). U. S. fish and Wildlife Research Center, Denver. 7 p. Unpublished work.
- McEwen, L. C., and Peterson, J. E. (1963). U. S. Fish wildlife Serv. Circ. 167, 45.
- Meeks, R. L., and Peterle, T. J. (1965). U. S. Fish wildlife Serv. Circ. 226, 49.
- Michel, H. O. (1949). J. Lab. Clin. Med. 34, 1564.
- Mills, P. A. (1959). J. /Assoc. Offic. Agr. Chemists 42, 734.
- Miskus, R. P., Gordon, H. T., and George, D. A. (1959). J. Agr. Food Chem. 7, 613.
- Moore, N. W. (1966). J. Appl. Ecol. 3 (Suppl.), 261.
- Mulla, M. S., Keith, J. O., and Gunther, F. A. d(1966). J. Econ. Entomal. 59, 1085.
- Nicholson, H. P., Grezenda, A. R., Lauer, G. J., Cox, W. S., and Teashey, J. I. (1964). Limnol. Oceanogr. 9, 310.
- Official methods of Analysis (1955). Assoc. Offic. Agr. Chemists. (W. Horwitz, ed.), 8th ed., pp. 493-496. Assoc. Offic. Agr. Chemists, Washington, D. C.
- Ott, D. E., and Gunther, F. A. (1965). In "Residue Reviews" (F. A. Gunther, ed.), pp. 70-84. Springer-Verlag. New York Inc., New York.
- Ott, D. E., and Gunther, F. A. (1966). J. Econ. Entomol. 59, 277.
- Peterson, J. E., and hall, C. W. (1964). U. S. Fish Wildlife Serv. Circ. 199, 45.

- Pope, J. D., Jr., Cox III, W. S., and Grzenda, A. R. (1966). "the determination of Silvex and its low volatile esters in water and muds". So. East Water Labs, Athens, Ga. Dept. health Bd. and Wel., Fed. Water Poll. Control Adm. 10 p. Unpublished work.
- Roth, F. J. (1957). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 40, 302.
- Rudd, R. L., and Genelly, R. E. (1956). R. E. (1956). Calif. Dept. Fish Game Bull. 7, 209 pp.
- Sandell, E. G. (1959). In "Chemical Analysis - Colorimetric Determination of Traces of metals." ed(B. L. Clarke, P. J. Elving and I. M. Kolthoff, eds.) 3rd ed. Interscience, New York.
- Shell Development Company. (1963). Anal. Methods MNS-1/63.
- Sjöstrand. B., (1964). Anal. Chem. 36, k814.
- Spencer, D. A. (1967). "Problems in Monitoring DDT and its Metabolites in the Environmnet." Presented at a meeting of the Monitoring Subcommittee of the Federal. Committee on Pest Control. May 18, 1967.
- Springer, P. F., and Webster, J. R. (1951). Mosquito News 11, 67.
- Stahler, L. M., and Whitehead, E. I. (1950). Science 112, 749.
- Stanley, R. L., and LeFavoure, H. (1965). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 48, 666.
- Stickel, L. F., Stickel, W. H., and Christensen, R. (1966) Science 151, 1549.
- Storherr, R. W., and Mills, P. A. (1960). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 43, 81.
- Taber, R. D., and McdT. Cowan, I. (1963). In "Wildlife Investigational Techniques" (H. S. Mosley, ed.) 2nd ed., pp. 250-k283. Edwards, Ann Arbor, Michigan.
- Taylor, A., Rea, R. E., and Kirby, D. R. (1964). Analyst 89, 497.
- Terriere, L. C., Kiigemagi, V., Gerlach, A. R., and borovicka, R. L. (1966). Agr. Food Chem. 14, 66.
- Thornburg, W. W. (1963). In "Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators and Food Additives" (G. Zweig, ed.). Vol. 1, pp. k87-108. Academic press, New York.
- Tompkins, W. A. (1966). massachusetts Pesticide Monitoring Study Progress Report No. 1. Grant WPD 88-ddddddd01. Dept. Health,

Educ., and Welfare, Washington, D. C.

White, dR. E. (1965). Insecticide analysis Procedure used by the Klamath Basin Study. presented to pacific Northwest Pollution Control Association, Vaqncouver, B. C., Nov. 3-5, 1965.

Woodwell, G. M., and Martin, F. T. (1964). Science 143, 481.

Wurster, C. F., Wurster, D. H., and Strickland, W. N. (1966). Science 148, 90.

Yip. G. (1964). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 47, 343.

قائمة المصطلحات



Absorptimetry	الإمتصاصية
Acceptable daily intake	التناول اليومي المقبول
Accuracy	الدقة
Action of cholinesterases	فعل إنزيمات الكولين إستريز
Activation	التنشيط
Acute toxicity	السمية الحادة
Adsorption	الإدمصاص
Adsorption chromatography	الإدمصاص الكروماتوجرافي
AECD	كاشف التوصيل الإلكتروني القلوي
AFID	كاشف التأين باللهب القلوي
Alternative methods	الطرق البديلة
AMD "Automatic Multiple Development	الطريقة الآلية المتعددة والمتطورة
Ampermetric	قياس التيار
Analyst	القائم بالتحليل
Analytical methods	طرق التحليل
Antibody	الجسم المضاد
Antigen	الجزئ المحفز
Antiserum	المصل المضاد
Applicability	إمكانية التطبيق
Aprotic	تحت ظروف غياب الماء
Asterisk	علامة مميزة
Auto analyser	المحلل الأتوماتيكي
Auto radiography	القياس الذاتي للإشعاع
Avoidance of contamination	تجنب التلوث
Avoidance of losses	تجنب الفقد
Azotize	تفاعلات الأزو النهائية

B

Back scattering	تشتت الإشعاع
Background	الخلفية
Basic resources	المطلوبات الأساسية
Becquerel	وحدة النشاط الإشعاعي
Bioassay	التقييم الحيوي
Bioindicator	استخدام الكائنات الحية في التقييم
Biological assay	التقييم الحيوي
Biological relative effects	التأثير البيولوجي النسبي
Biological systems	النظم الحيوية
Biosynthesis	التخليق الحيوي
Biotechnology	التكنولوجيا الحيوية
Blank	العينة الخالية من مادة التحليل (المقارنة)
Blank responses of interferences	إختبارات لتحديد دور التداخلات
Buffering	التنظيم

C

Carrier	المنصر الحامل
Cartridge	أنبوب الأدمصاص
Cathode	الكاثود
CCPR	لجنة الدستور
Chemical separation	الفصل بالطرق الكيماوية
Chemigation	الري الكيماوي
Choice of methods for collaborative study	إختيار الطرق للدراسات المنسقة والمشاركة
Chromatography	التحليل الكروماتوجرافي
Chromatographic applications	تطبيقات الكروماتوجرافي
Chronic	مزم
Chronic toxicity	السمية المزمنة
"CIPAC" collaborative international Pesticides analytical council limited"	اللجنة الدولية المحدودة المشتركة لتحليل المبيدات

CIPAC formate	إستمارة السيباك
CIPAC information sheet	إستمارة معلومات السيباك
Clean-up	تنظيف (تنقية)
Clean-up procedure	طرق التنقية
Co-extractives	مستخلصات مرافقة
Co-solvent	مذيب مساعد
Codex committe on pesticide residues	لجنة الدستور الخاصة بمخلفات المبيدات
Codex MRL	وثيقة أو دليل الحدود القصوى لمخلفات المبيدات
Collaborative	العمل المشترك
Colorimeter	جهاز قياس الألوان
Colorimetry	قياس لوني
Colormetric method	الطرق اللونية
Commission international des methodes D'analyse des pesticides	اللجنة الدولية لطرق تحليل المبيدات
Conductivity	التوصيل الكهربى
Confirmatory tests	الإختبارات التأكيذية
Continuous flow techniques	طرق الإنسياب المستمرة
Controllable operations	العمليات المتحكم فيها
Coulmetric	المعايرة
Coupling	الإزدواج
Crystallization	التبلور
Cumulative	التأثير المتراكم الكلى
Curie	وحدة الإشعاع
Cyclic	دورى



Decay	إضمحلال الإشعاع
Derivatization	عملية الإستقاق
Desimetry	إحدى طرق قياس الإشعاع
Detective or specific absorption	منطقة الإمتصاص المتخصصة أو الإختيارية

Detoxification	فقد السمية
Developer	الوسط الحامل (الناقل)
Development	عملية التصعيد
Dip counter	العداد الغامر
Direct exposure	التعرض المباشر
Direct scanning	الفحص المباشر للبقع
Discharge	تفريغ شحنات بصورة متصلة
Disintegration per minute	وحدة التحطيم الإشعاعي في الدقيقة
Dissociation	تفكك
Drying	التجفيف



ECD	كاشف الالتقاط الإلكتروني
Effective concentration	التركيز الفعال
Efficiency	الفاعلية
Enzymatic methods	الطرق الإنزيمية
EPA	وكالة حماية البيئة الأمريكية
Equivalent dose	الجرعة المكافئة
Estimated daily intake	التناول اليومي المحسوب
Excitation	إثارة السائل أو الصلب
Exposure of fish and wild life to pesticides	تعرض الأسماك والحياة البرية للمبيدات
Extinction coefficient	معامل الإمتصاص
Extraction	الإستخلاص
Extraction and clean-up	الإستخلاص والتنقية



FAO	منظمة الأغذية والزراعة
Far-uv	الأشعة فوق البنفسجية البعيدة
FID	كاشف التأين باللهب
Flame photometer	أجهزة قياس اللهب الضوئي

Flash vaporization in continuous flow analysis	التطهير الوميضي فى التحاليل المستمرة
Flow	الإنسياب
Flow rate	معدل الإنسياب
Fluidization	السيولة
Food consumption	معدل إستهلاك الغذاء
Formulation quality control check	إختبارات تقدير الجودة للمستحضرات
Formulations	مستحضرات المبيدات
Fortification	التقوية
FPD	كاشف اللهب الضوئى



G.C. "Gas chromatography"	الكروماتوجرافى الغازى
Gamma ray	شعاع جاما
Gas phase counter	عداد الحالة الغازية
GC / mass spectrometry	جهاز مطياف الكتلة مع الكروماتوجرافى الغازى
GLC "Gas liquid chromatography"	الكروماتوجرافى الغازى السائل
GLP	العمليات المعملية الجيدة



Homogenization	تجانس أو طحن العينات
HPLC "high pressure liquid chromatography"	كروماتوجرافى السائل على الأداء
Hybridoma	تكنولوجيا التهجين
Hybridomas	خلايا مدمجة بعد زراعتها



Immersion counter	عداد الغمر
Immuno assays	التقييم الحيوى بأجهزة المناعة
Immuno chemistry	كيمياء المناعة
Immunoassay	التحليل المناعى
In vitro	خارج الخلايا الحية

Indicator compound	المركب الدليل
Infrared spectrophotometric	القياس اللونى بالأشعة تحت الحمراء الأمبكتروفوتومترية
Instrumental methods	الطرق التى تستخدم الأجهزة
Internal standards	المواد القياسية الداخلية
International group of national as- sociations of Manufacturers of agro-chemical products	المجموعة الدولية للروابط القومية لصناع المنتجات الزراعية
International standard organization	الهيئة الدولية للمواصفات القياسية
Ion-exchange resins	راتنجات التبادل الأيونى
Ionization	التأين
IR	الأشعة تحت الحمراء
ISO guide	دليل المواصفات القياسية
Isothermal	نظام العمل على درجة حرارة ثابتة
Isotope	النظير

J

JMPR	اللجنة المشتركة لمنظمى الفاو والصحة العالمية
------	--

L

Labeling and isotope methods	التشيع وطرق النظائر
Labelling	تشيع المبيدات فى وضع معين
Lethal concentration	التركيز المميت
Lethal dose	الجرعة المميتة
Lipophilic	محب للدهن
Liquid / Liquid solvent extraction	الإستخلاص بالمذيبات
Liquid detector	كشاف السوائل
Liquid flow	الإنسياب المستمر للسائل
Liquid scintillation	عداد السائل
Loadability	تحميل العمود



Maintenance of overall analytical performance	المحافظة على كفاءة التحليل
Manometric method	الطريقة المانومترية
Markers	المعلّمات
Mass spectrometer	جهاز قياس الكتلة
Maximum absorption	أقصى إمتصاص
Maximum daily intake (MDI)	أقصى تناول يومي إفتراضي
MCD "Minimal concentration determined	التركيز الأدنى الواجب تقديره فى العينة
MDO "Minimum detectable Quantity"	أقل كمية يمكن تقديرها
Mechanism	الفعل (ميكانيكية الفعل)
Mechanism of action	تقنية الفعل
Median lethal dose (MLD)	الجرعة الوسيطة القاتلة
Median lethal time	الوقت الوسيط القاتل
Medical Science and Automic energy Agency	وكالة العلوم الطبية والطاقة الذرية
Metabolism	تمثيل المبيدات
Metabolites	نواتج التمثيل
Micelles	جسيم دقيق
Minimum absorbance	أدنى إمتصاص
Mobile phase	الطور المتحرك
Mode of detections	نظام الكشف
Monitoring	الإستكشاف
Monochromator	خلية ضوئية
Monoclonal	جسم مضاد وحيد
MRL's Maximum residue limits	المستويات القصوى للمخلفات
Mutagenic	تأثير طفرى

N

No observable adverse effect level (NOAEL)	مستوى المخلفات التي لا تحدث تأثيرات معاكسة
Non-detected	لم يتم الكشف عنها
Nuclear disintegration	التحطم النووي
Nuclear magnetic resonance (NMR)	جهاز الرنين النووي المغناطيسي

O

Obligatory operations	العمليات الإجبارية
Optical absorbance	الإمتصاص الضوئي
Optical density	الكثافة الضوئية
Optimisation	الأمثل

P

P. value	معامل التجزئ
Paper chromatography	كروماتوجرافى الورق
Paper technique	إستخدام الإختبار الورقى
Parent compounds	المركبات الأساسية
Parent radio active product	المنتج النشط إشعاعياً
Participation in collaborative studies / ring tests	الإشتراك فى دراسات مشتركة / إختبارات الحلقة
Partition	التجزئ
Partition distribution	التوزيع التجزئى
Pesticide residue intake	تناول مخلفات المبيدات
Pharmacokientic	دراسات حركية للكيميائيات
Photometer	أجهزة القياس الضوئى
Pilot trial	التجارب والإختبارات الأولية
Planimetry	الطريقة البلايمترية
Polycolnal	مضادات البلازما المتعددة الأنظمة
Post-column derivatization	عمود الإشتقاق

Potential	فرق الجهد
Potentiometric method	طرق قياس الجهد
PPb "Part per pillion"	جزء في البليون
PPm "part per million"	جزء في المليون
Per-analysis requirements	متطلبات ما قبل التحليل
Precision	الأحكام



Quality control	تقدير الجودة
Quantitation	التحليل الكمي



Radiation	الإشعاع
Radiation absorbed dose	الجرعة الممتصة
Radio activity	النشاط الإشعاعي
Radiometric	طرق التقدير الإشعاعي
Rate of recovery	معدل الإسترجاع
Recovery	معدل الإسترجاع
Recovery studies	دراسات الإسترجاع
Reference	المادة القياسية
Regulatory analysis	التحاليل المنتظمة
Relative retention time	وقت الإحتجاز النسبي
Relative Rf value	معامل الإنسياب النسبي
Reliability	موثوق بها
Repeatability	حساب التكرارية
Repeatability & reproducibility	التكرارية وإعطاء نفس النتيجة
Reproducibility	التكرار والتأكد
Residues	متبقيات المبيدات
Response	إستجابة
Retention index	دليل الإحتجاز

Retention time	الوقت اللازم مروره من وقت الحقن وحتى ظهور قمة المنحنى (وقت الإحتجاز)
Retention volume	الحجم من الغاز اللازم لإخراج المركب
Rf "Rate of flow"	معدل الإنسياب
Rf value	قيمة معامل الإنسياب
Risk	الضرر (الخطر)
Roentgen (r)	جرعة التعرض الإشعاعى
Rotary vaccum	التبخير الدورانى بالتفريغ
RRf "Relative Response factors"	معامل الإستجابة النسبية
RRT "Relative retention time"	وقت الحسب النسبى
Running time	وقت الفصل



Safety	الأمان
Saponification	عملية التصبن
Scintillation	وميض السائل
Screening	الكشف الروبىنى
Selectivity	التخصص
Self absorption	الإمتصاص الذاتى
Semi-quantitative	شبه كمى
Semiquantitative determination	التقدير نصف الكمى
Sensitivity	الحساسية
SFC "Supercritical fluid chromatography"	الكروماتوجرافى السائل فائق الحد
Shelf life	فترة التخزين على الرف
Simulated field tests	الإختبارات التى تحاكى الحقيقة
Site of action or receptor	المستقبل أو مكان التأثير
Solvolysis	تحلل مائى بالمذيب
Specific absorption	الإمتصاص النوعى
Specific activity	النشاط النوعى
Specific methods	طرق متخصصة

Specifications	المواصفات
Specificity	التخصص
Spectrophotometric	طرق الكشف عن المبيدات بالوسائل الإسبكتروفوتومترية
Spectroscopic	الخواص الطيفية
Standard calibration curves	المنحنيات القياسية للمبيدات
Static	النظم الساكنة
Stationary phase	الطور الثابت
Steam distillation	التقطير بالبخار
Sub-sampling	العينات المجزئة (تجزئ العينات)
Super critical fluids	السوائل الفائقة التميز (الحرارة)
Systemic	جهازى

T

Teratogenic	تشوهات العمود الفقرى
Thermoionic	الومضات الحرارية الأيونية
Titrimetric method	طريقة المعايرة أو التنقيط
TLC "thin layer chromatography"	كروماتوجرافى الطبقة الرقيقة
Tolerance	مستوى التحمل
Toxicity	السمية

U

Ultraviolet U.V.	الأشعة فوق البنفسجية
Utilization of precision data	إستخدام بيانات الدقة
Uv-detection	كشاف الأشعة فوق بنفسجية

V

Vacuum rotary evaporator	المبخر الدوار تحت التفريغ
Validation of methods	صلاحية الطرق
Visible	الضوء المرئى
Visual	الألوان المرئية
Visual colorimeter	جهاز قياس الألوان المرئية

رقم الإيداع ١٥٦٤٣/١٩٩٨

طابع الكتب المصورة الحديث
MODERN EGYPTIAN PRESS
ت. : ٤٤٤١٠٧٠ - ٤٤٤١٠٧٤ - ٤٤٤١٠٧٧ فاكس ٤٤٤١٠٧٧

هذا الكتاب

ترجع أهمية هذا الكتاب لعدم وجود إصدارات باللغة العربية تتناول موضوع الكشف والتقدير للكميائيات المستخدمة في مكافحة الآفات ضمن أنواع المبيدات سواء كانت من مصادر طبيعية أو تلك المختلفة كيميائياً بالرغم من الاستخدام المكثف لهذه السموم والعديد من المشاكل التي خلقت عن الإشراف في التطبيق خاصة ما يعرف بالثورات البيئية بالمبيدات. لا يتعدى الأمر وجود مذكرات مختصرة لتدريس هذا العلم أو الفن لطلاب مرحلة البكالوريوس. أما طلاب الدراسات العليا والبحث في الجامعات ومراكز البحث الأخرى لم يحظوا بتفصيل من هذا الاهتمام.

لقد تعاطف دور وأهمية تقدير مخلفات المبيدات في المكونات البيئية العديدة وكذلك التأكد من جودة المستحضرات النهائية التي تستخدم في مكافحة الآفات على اختلاف المواد الفعالة الداخلة في تركيبها. وكان من الأهمية للمستغلون في مجال المبيدات والسموم التعريف بالبيادىء الأساسية في تحليل وتقدير مخلفات المبيدات والإصطلاحات المتداولة والمستويات المقبولة تواجدها في الغذاء والماء والهواء.... الخ. واللجان الدولية المحلية والقومية المعنية بموضوع وخطورة المبيدات. وهذا ما تناوله الكتاب بالشرح والتحليل.

وأخيراً نأمل أن نكون قد أضفنا مرجعاً هاماً يستفيد منه العاملون في المجال، وأن يكون قد أثربنا المكتبة العربية.

والله من وراء القصد.

الناشر

ISBN: 977 • 281 • 080 • 8

ACADEMIC BOOKSHOP

